Untersuchungen zur Frage des Einflusses von Miltaun ® (Meprobamat) und Äthylalkohol auf die Ausscheidung von Hippursäure im menschlichen Harn

von

Gotthold G. Aplas

aus

Erlangen

1974

1975 № 20

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548410_0007

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. H.-B. Wuermeling

Untersuchungen zur Frage des Einflusses von Miltaun ® (Meprobamat) und Äthylalkohol auf die Ausscheidung von Hippursäure im menschlichen Harn

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereichs Medizin
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt
von
Gotthold G. Aplas
aus
Erlangen

Gedruckt mit Erlaubnis des Fachbereichs Medizin der
Universität Erlangen-Nürnberg

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

komm. Dekan: Prof. Dr. E. Rügheimer

Referent: Prof. Dr. Dr. M. Geldmacher von Mallinckrodt
Korreferent: Prof. Dr. H.-B. Wuermeling

Tag der mündlichen Prüfung: 2. Dezember 1974

Gewidmet

meiner lieben Großmutter

Frau Tatjana Schultz

Disposition

		Seite
1.	EINLEITUNG	5
2.	PROBLEMSTELLUNG	7
3.	HAUPTTEIL	8
3.1	Erster Teil	8
	Theoretische Betrachtungen über die Hippursäure	
3.1.1	Die Komponenten	8
3.1.1.1	Benzoesäure	8
3.1.1.2	Glykokoll	1o
3.1.2	Das Kopplungsprodukt von Glycin und Benzoesäure	11
	Hippursäure	
3.1.3	Ort der Synthese	14
3.1.4	Chemische und physikalische Eigenschaften der Hippursäure	15
3.1.5	Hippursäure und Benzoylglucuronid	16
3.1.6	Quantitative Angaben über die tägliche Hippursäureausscheidung beim Menschen	18
3.1.7	Tag- und Nachtrhythmus	19
3.2	Zweiter Teil	2o
	Klinische Betrachtungen und Ergebnisse	
3.2.1	Exogene und endogene Faktoren, welche die Hippursäureausscheidung im Urin beeinflussen	2o

		Seite
3.2.1.1	Exogene Faktoren	2o
3.2.1.1.1	Nahrungsmittel	2o
3.2.1.1.2	Chemische Stoffe	24
3.2.1.2	Endogene Faktoren	3o
3.2.2	Der QUICK-Test	33
3.3	Dritter Teil	35
	Eigene Untersuchungen	
3.3.1	Versuchsvorbereitungen	35
3.3.1.1	Gesundheitliche Voraussetzungen der Versuchsperson	35
3.3.1.2	Versuchsanordnung und Methodik	35
3.3.1.3	Wiederfindungsversuche mit Hippursäure	46
3.3.1.4	Wiederfindungsversuche mit Benzoesäure	5o
3.3.1.5	Nachweisgrenze von Benzoesäure	52
3.3.1.6	Wahl des Pharmakon	55
3.3.2	Versuchsdurchführung	57
3.3.2.1	Vorversuche (Leerwert)	57
3.3.2.2	Diätversuche	58
3.3.2.3	Miltaunversuch	64
3.3.2.4	Alkoholtest	66
3.3.2.5	Nachversuche (Leerwert)	7o
3.3.3	Tabellarischer und graphischer Anhang	72
3.3.3.1	Speisenplan	72
3.3.3.2	Graphische Darstellungen	81
4.	DISKUSSION	84
5.	ZUSAMMENFASSUNG	94
6.	LITERATURVERZEICHNIS	98

1. EINLEITUNG

Im Jahre 1829 gelang es v. LIEBIG erstmalig, Hippursäure aus dem Pferdeharn zu isolieren (hippos = Pferd, uron = Harn). Seit dieser Zeit hat die Hippursäure in zunehmendem Maße an Interesse gewonnen.

Bereits 1841, zwölf Jahre nach ihrer Entdeckung, erkannte URE die Bedeutung der zunächst im tierischen Harn gefundenen Säure für den menschlichen Organismus: ein Kopplungsprodukt, aus Benzoesäure und Glykokoll (Glycin) synthetisiert, mit der Aufgabe einer Entgiftungsfunktion.

In der Folgezeit führte die Hippursäure zu neuen Untersuchungen, gleichermaßen im menschlichen und tierischen Organismus. Die Ergebnisse ließen die vielseitige Stellung der Hippursäure erkennen. Ort und Vorgang der chemischen Synthese sowie individuell-physiologische Einflußgrößen (z.B. Körpergewicht, Alter, Geschlecht usw.) auf die Ausscheidung stehen in Diskussion.

In jüngster Zeit wurden viele neue Faktoren, die die Ausscheidung der Hippursäure beeinflussen, bekannt. Auch Nachforschungen über den Einfluß exogener wie endogener Faktoren auf die Hippursäureausscheidung, wie z.B. Pharmaka, Alkohol stehen im Vordergrund der Betrachtung.

Zu dieser Komplexität liegen - selbst wenn man die Tierversuche ausklammert - eine Vielzahl unterschiedlicher und nicht eindeutiger Aussagen vor.

Diese bisher gewonnenen Ergebnisse bedürfen noch weiterer Untersuchungen und Vervollständigungen.

2. PROBLEMSTELLUNG

Die vorliegende Arbeit hat die Aufgabe, zunächst Normalwerte der Hippursäureausscheidung beim Menschen über einen Zeitraum von 4 Wochen zu bestimmen. Nach Erreichen eines annähernd konstanten Ausscheidungswertes durch Diät verfolgt sie in einer zweiten Untersuchung den Einfluß eines Pharmakons (Miltaun^{R} (Meprobamat)) auf die Ausscheidung der Hippursäure bei derselben Versuchsperson, anschließend von Alkohol in einem Alkoholtest.

Danach soll geprüft werden, ob ein "Wach-Schlaf-Rhythmus" bzw. "Tag-Nacht-Rhythmus" für die ausgeschiedene Hippursäuremenge besteht.

Zur Überprüfung der Meßgenauigkeit und der Schwankungsbreite von Meßfehlern wurden Wiederfindungsversuche mit Hippur- und Benzoesäure durchgeführt.

Die letztgenannten Versuche sollen Antwort auf die Frage nach dem Vorhandensein freier Benzoesäure im Urin unter physiologischen Bedingungen geben, das gleichfalls noch nicht geklärt ist.

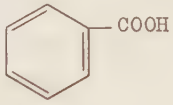
3. HAUPTTEIL

3.1 Erster Teil

Theoretische Betrachtungen über die Hippursäure

3.1.1 Die Komponenten

3.1.1.1 Benzoesäure



Die Benzoesäure ist eine einfache, aromatische Verbindung. Sie gelangt durch vegetabile Bestandteile der Nahrung, wahrscheinlich über eine nichtaromatische Vorstufe, die Chinasäure, in den Organismus. Auch kann sie als Benzoesäure oder Parahydroxybenzoesäure, die wegen ihrer bakteriostatischen Wirkung gute Konservierungsmittel sind, durch Speisen aufgenommen werden (MØLLER 1961, DERACHE et GOURDON 1963, VAN SUMERE und Mitarb. 1969).

Kleinere Mengen Benzoesäure liefern der Eiweißstoffwechsel (BERNHARD und Mitarb. 1955, LANG 196o, VOLLGRAFF 1967), fermentative Prozesse (VOLLGRAFF 1967) und Fäulnisprozesse im Darm (STRUWE 1953). Benzoesäure wirkt in höheren Dosen toxisch, sie wird normalerweise rasch re-

sorbiert (SCHANKER und Mitarb. 1958), nicht gespeichert (LANG 196o), vom Körper eliminiert, indem er sie mit Glykokoll konjugiert und als Hippursäure entgiftet ausscheidet.

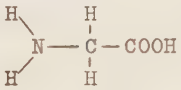
Über die Höhe der toxischen Dosis beim Menschen bestehen unterschiedliche Angaben. Sie schwanken zwischen 5,7 und 35 g Benzoesäure (STRUWE 1953).

Bei Erreichen der toxischen Dosis treten

vegetative Symptome:	Diarrhoe, Erbrechen, Nausea und
zentralnervöse Symptome:	Kopfweh, Schwindel, Ohrensausen, reflektorisches Erbrechen auf (STRUWE 1953).

Durch gleichzeitige Gaben von Glykokoll läßt sich die Toxicität von Benzoesäure aufheben bzw. mindern (LANG 196o).

3.1.1.2 Glykokoll (Glycin)



Glykokoll, welches der Organismus zur Entgiftung von Benzoesäure benötigt, ist eine nicht essentielle Aminosäure mit nur 2 C-Atomen, optisch nicht aktiv, die in geringer Konzentration frei im Blut, in Geweben und Organen vorliegt.

Sie wird entweder synthetisch aus Zwischenprodukten des Kohlenhydrat- und Eiweißstoffwechsels oder durch hydrolytische Freisetzung aus gespeicherten Proteinen gewonnen (STRUWE 1953, GARFINKEL und LAJTHA 1963, LOWE und WILLIAMS 1965, FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ 1966).

Als Hauptbildungsweg wird die Umwandlung verwandter Aminosäuren wie Serin und Threonin angenommen (STROHMEYER und KLINGMÜLLER 1964, WEBB und Mitarb. 1966). Auch kommen Sarcosin und in kleineren Mengen Glutamin, Glutaminsäure, Leucin und Tyrosin in Betracht (STRUWE 1953, LANG 196o, DERACHE und GOURDON 1963, FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ 1966, WEBB und Mitarb. 1966, GARFINKEL 1963).

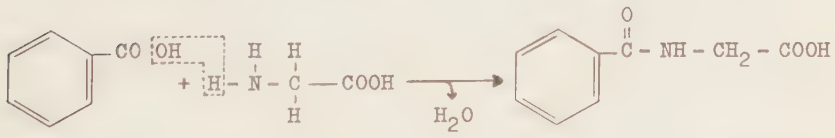
Da die Leber in einer bestimmten Zeiteinheit nur eine begrenzte Glykokollmenge bereitstellen kann, (im Mittel

12 mM/Std. und 100 g Körpergewicht) ist der Glycinvorrat beschränkt (ALMQUIST 1953, STRUWE 1953, LANG 1960). Obwohl die Leber mit ihrem Gehalt an freiem Glykokoll die anderen Gewebe übertrifft und somit die Rolle des Glykokoll liefernden Organs übernimmt, hat ihre Glykokollkonzentration keinen konstanten Wert, sondern hängt ab von dem jeweiligen Funktions- und Ernährungszustand (FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ 1956, STRUWE 1953).

3.1.2 Das Kopplungsprodukt von Glycin und Benzoesäure:

Hippursäure

Glycin und Benzoesäure werden durch eine säureamidartige Bindung miteinander verknüpft. Das Ergebnis dieser Kopplung ist die Hippursäure.



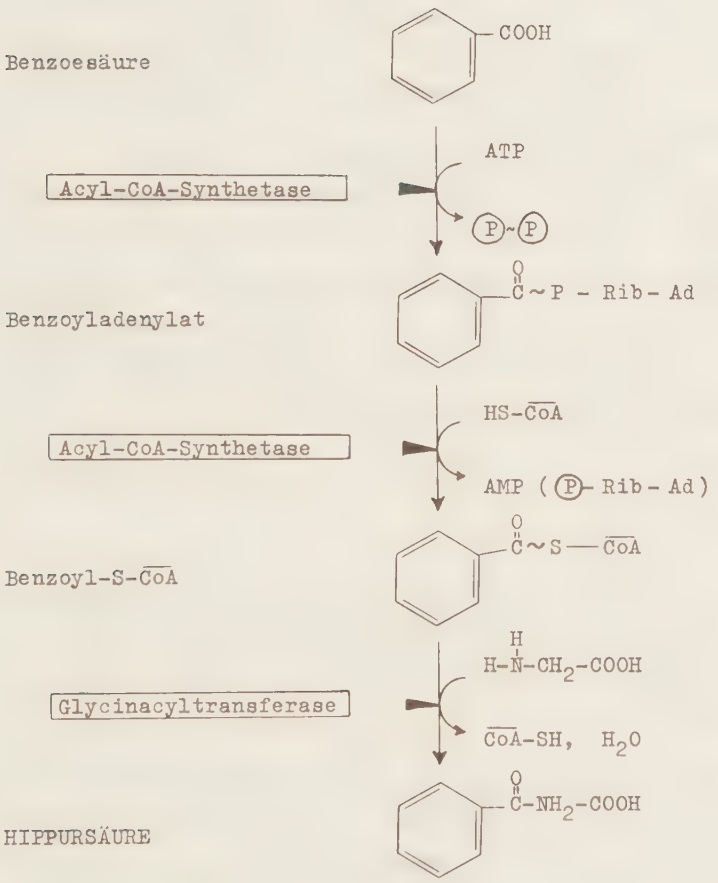
Benzoesäure Glykokoll Hippursäure

Die Hippursäuresynthese ist ein O_2-verbrauchender, fermentativer Vorgang, der endotherm verläuft (STRUWE 1953,

FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ 1954). Die dafür benötigte Energie wird aus dem oxydativen Abbau der Brenztraubensäure (Pyruvat) gewonnen, in Form von ATP gebunden, gespeichert und kann bei Bedarf auf das bei der Hippursäurebildung tätige System übertragen werden. Dabei ist Cytochrom c zur Regeneration des gespaltenen ATP in der Atmungskette erforderlich (STRUWE 1953, FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ 1956, ANONYMUS A 1968).

Für die Bildung der Peptidbindungen an der Hippursäure ist zunächst eine Aktivierung der Carboxylgruppe der Benzoesäure erforderlich. Diese entspricht im Prinzip der Aktivierung von Fettsäuren und erfolgt unter ATP-Verbrauch.

Die Benzoesäure wird dabei zum Benzoyl-S-CoA. Von diesem wird dann der Benzoylrest auf Glycin übertragen (LANG 196o, FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ 1966, ANONYMUS A 1968):


Benzoesäure
COOH
ATP
Acyl-CoA-Synthetase
P~P
Benzoyladenylat
C ~ P - Rib - Ad
HS-CoA
Acyl-CoA-Synthetase
AMP (P - Rib - Ad)
Benzoyl-S-CoA
C ~ S — CoA
H-N-CH2-COOH
Glycinacyltransferase
CoA-SH, H2O
HIPPURSÄURE
C-NH2-COOH

3.1.3 Ort der Synthese

Beim Menschen gilt es als gesichert, daß Hippursäure in der Niere synthetisiert wird, wahrscheinlich auch in der Leber (STRUWE 1953, DESPOPOULOS 1966, FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ 1966).

Andere Gewebe kommen für die Synthese nicht in Betracht. COHEN und Mc GILVERY zeigten 1946 an Rattenversuchen, daß ausschließlich Leber- und Nierengewebe Glykokoll und para-Aminobenzoesäure in para-Aminohippursäure verwandeln konnten, während Herzmuskel, glatte Muskulatur, Hirn, Milz, Pankreas und Testes unwirksam waren.

Die Niere zeigte dabei eine 2,5 - 3 mal größere Aktivität als die Leber.

Die Beteiligung der Leber am Synthesevorgang darf mit Sicherheit angenommen werden (STRUWE 1953, LANG 196o, JOHANNSEN und Mitarb. 1962, LA DOU und Mitarb. 1962, VOLLGRAFF 1967).

Für diesen Syntheseort spricht, daß auch hier der biologische Prozeß der Atmungskette abläuft. Dieser gilt als Energiespender für die Kopplung von Glycin und Benzoesäure.
Es steht fest, daß die Leber als einziges Organ den Ent-

giftungsmechanismus unabhängig durchführen kann, während die Niere auf die Glykokollzufuhr durch die Leber angewiesen ist.

3.1.4 Chemische und physikalische Eigenschaften der Hippursäure (C_6H_5-CO-NH-CH_2-COOH)

Chemische:

Molekulargewicht	:	179,17
Dissoziationskonstante	:	$1,6 \cdot 10^{-4}$
Kristallform	:	lange, farb- und geruchlose, rhombische Prismen, mitunter sternförmig angeordnet

Physikalische:

Schmelzpunkt	:	187,5° C, (189-190° C)
Dichte	:	1,371 bei 20° C, bezogen auf Wasser von + 4° C
Brechungsindex	:	n_D = 1,535 (1,592 / 1,760) D = gelbe Natriumlinie 0,589
Löslichkeit	:	

in 100 ml Chloroform lösen sich 0,11 g Hippursäure
in 100 ml Äther lösen sich 0,25 g Hippursäure
in 100 ml Wasser lösen sich 0,35 g Hippursäure

leichtlöslich	in heißem Wasser
löslich	in heißem Alkohol
wenig löslich	in kaltem Wasser und kaltem Alkohol
unlöslich	in Benzol, Petroläther, Schwefelkohlenstoff

Salze : Ag-, Cu-, Pb-Salze in H_2O schwer löslich
Fe(III)-Salz unlöslich

(RAUEN 1956, FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ 1966, HALLMANN 1966, RÖMPP 1966, TEUCHY und VAN SUMERE 1969, WEISS 197o)

3.1.5 Hippursäure und Benzoylglucuronid

Der Organismus ist in der Lage, den Entgiftungsmechanismus auch an Benzoesäuremengen vorzunehmen, die die physiologischen Quantitäten übersteigen, bis zu einem gewissen Maximalwert (STRUWE 1953).

Verschiedene Autoren berichten von 9o bis 95 % Hippursäurecentgifteter Benzoesäure (FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ 1957, LA DOU und Mitarb. 1962).

BRIDGES und Mitarb. wiesen 197o mit C^{14} markierter Benzoesäure nach, daß 1 mg/kg Körpergewicht Benzoesäure in 4 Stunden zu 94, in 12 Stunden zu loo % umgewandelt wird.

Da diese Versuche nur an zwei Personen durchgeführt wurden, besitzen sie keine allgemein gültige Aussagekraft. Im Tierexperiment stellten BRIDGES und Mitarb. fest, daß bei einer Belastung von 5o mg/kg, also bei hohen Gaben von Benzoesäure, bei Schwein, Hund, Frettchen, Stachelschwein und Taube nach 24 Stunden neben etwa 8o % Hippursäure auch 2o % Benzoesäure-Glucuronid sowie wenig freie Benzoesäure ausgeschieden wurden.

Diese Erscheinung ist von SCHACHTER 1957 auch im menschlichen Organismus beobachtet worden. Nach Gabe von 1 - 1o g Natriumbenzoat per os stieg beim Menschen der Anteil der Benzoesäure-Glucuronsäure-Verbindung bei der Gesamtausscheidung von o,4 % auf 3 %, bei großen Dosen sogar bis 1o %.

Über ein Auftreten freier Benzoesäure im Urin nach Gabe von Natriumbenzoat ist in dieser Arbeit nichts vermerkt.

Die Glucuronsäurepaarung stellt einen Reservemechanismus dar, der bei Insuffizienz der Glykokollpaarung oder bei sehr hoher Benzoesäurebelastung auf Kosten der Hippursäurebildung beansprucht wird. Besonders bei Lebererkrankungen kann das Verhältnis Hippursäure : Benzoesäureglucuronid zugunsten letzterer verschoben sein (STRUWE 1953, SCHACHTER 1957, WU und ELLIOT 1961, PAGNOTTO und LIEBERMAN 1967).

3.1.6 Quantitative Angaben über die tägliche Hippursäureausscheidung beim Menschen

Die in der Literatur angegebenen Werte über die tägliche normale Hippursäureausscheidung sind sehr mannigfaltig. Der Übersicht halber seien einige Werte gegenübergestellt:

BÖMER und Mitarb. 1933		:	0,1 - 1,0 g
LANG und LEHNARTZ 1953		:	0,7 g
FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ	1957	:	0,7 g
VAN SUMERE und Mitarb.	1969	:	0,392 g
STEIN und Mitarb.	1954	:	1,0 - 2,5 g/die
CAMIEN und Mitarb.	1959	:	3,3 µMol/ml
PAGNOTTO und LIEBERMAN	1967	:	0,8 g / l
IKEDA und OHTSUJI	1969	:	398 mg/l

Trotz dieser erheblichen Differenzen sind die Angaben über die Maximalausscheidung unter normalen physiologischen Bedingungen recht einheitlich. Sie wird mit 1 g / die angegeben.

1957 fand SCHACHTER einen Wert von 1 g / Stunde als maximal mögliche Hippursäureausscheidung unter unphysiologischen Bedingungen.

3.1.7 Tag- und Nachtrhythmus

Über einen "Wach-Schlaf-Rhythmus", der möglicherweise in einer bestimmten Relation zur ausgeschiedenen Hippursäuremenge stünde, liegen keine Angaben vor.

Über ein alternierendes Detoxikationsvermögen von Leber und Niere im Sinne eines Tag-Nacht-Rhythmus, das sich in unterschiedlichen Hippursäurewerten äußern könnte, ist nur wenig geschrieben worden.

GEORGI (195o) berichtete bei Untersuchungen über einen 24-stündigen Rhythmus der Detoxikationsfähigkeit, wonach zwischen 23 Uhr und 3 Uhr eine erniedrigte Hippursäureausscheidung auftrat.

Er stellte bei gesunden Versuchspersonen signifikante Unterschiede zwischen den Tages- und Nachtwerten fest, so daß man von einem "Funktionsrhythmus des Entgiftungsvermögens" sprechen kann, für dessen Auftreten jedoch eine befriedigende Erklärung noch aussteht.

3.2 Zweiter Teil

Klinische Betrachtungen und Ergebnisse

3.2.1 Exogene und endogene Faktoren, welche die Hippursäureausscheidung im Urin beeinflussen

3.2.1.1 Exogene Faktoren

3.2.1.1.1 Nahrungsmittel

Von den exogenen Faktoren nehmen besonders die Nahrungsmittel eine entscheidende Stellung ein. Man unterscheidet hier danach, ob der Vorläufer für die Hippursäurevermehrung bekannt oder unbekannt ist.

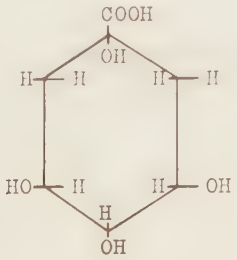
Jede Gruppe läßt sich wieder danach unterteilen, ob sie bei ihrem Abbau im Stoffwechsel Benzoesäure oder Glykokoll liefert.

Als Hauptursprung für eine erhöhte Hippursäureausscheidung gilt die in vielen pflanzlichen Nahrungsmitteln enthaltene Chinasäure. Sie kommt im Obst und in verschiedenen Gemüsen vor (ADAMSON und Mitarb. 197o).

Hauptlieferanten für die Chinasäure sind:

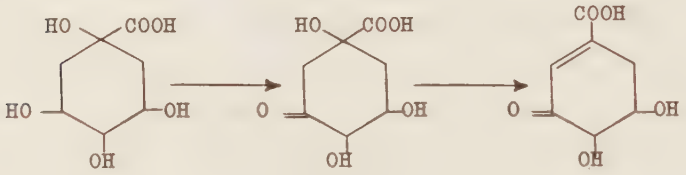
Pflaumen	:	(STRUWE 1953, ASATOOR 1965, PAGNOTTO und LIEBERMAN 1967)
Kaffee	:	(TOMPSETT 1961, ASATOOR 1965, RÖMPP 1966, PAGNOTTO und LIEBERMAN 1967, ADAMSON und Mitarb. 197o)
Preißelbeeren	:	(RÖMPP 1966)
Stachelbeeren	:	(RÖMPP 1966)
Zuckerrüben	:	(ASATOOR 1965, RÖMPP 1966)
Äpfel, Birnen	:	(BODEL und Mitarb. 1959, ASATOOR 1965)
Pfirsiche	:	(BODEL und Mitarb. 1959, ADAMSON und Mitarb. 197o)
Aprikosen	:	(BODEL und Mitarb. 1959)

Die Umwandlung der Chinasäure in Benzoesäure wird seit vielen Jahren diskutiert, die Untersuchungen auf diesem Gebiet sind jedoch bis heute noch nicht abgeschlossen. Die CHINASÄURE ist eine 1,3,4,5-Tetrahydroxycyclohexan-carbonsäure



Sie wird im Organismus aromatisiert, dann dehydriert und zu Benzoesäure umgewandelt; die sich anschließende Kopplung mit Glycin führt schließlich zur Hippursäure (BERNHARD und Mitarb. 1955).

Darmbakterien sollen beim Menschen die Aromatisierung der Chinasäure vollziehen (BODEL und Mitarb. 1959, WILLIAMS 1959, BRDIGES und Mitarb. 197o). Folgender Reaktionsweg wird angenommen:



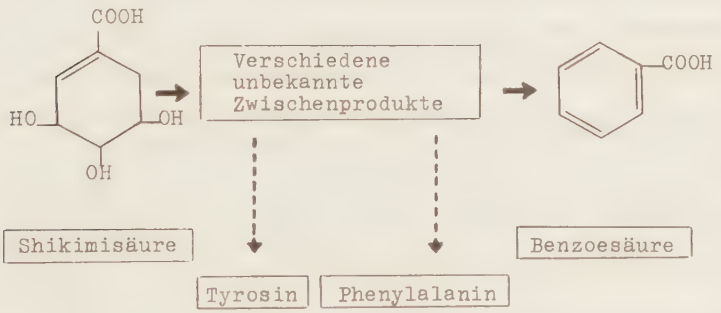
Chinasäure — 5-Dehydro-Chinasäure — 5-Dehydro-Shikimisäure

COTRAN und Mitarb. konnten 196o durch Untersuchungen nachweisen, daß die intestinale Darmflora an der Aromatisierung der Chinasäure beteiligt ist. Durch hohe Gaben von Neomycin, die eine Vermehrung der Darmbakterien bei der Versuchsperson unmöglich machten, fiel der durch Chinasäureeinnahme zuvor erzielte Hippursäurewert rapide auf das Niveau des Kontrollwertes (Versuchswert ohne Chinasäure) oder noch tiefer ab, obwohl weiter Chinasäure eingenommen wurde.

Daraus schloß COTRAN, daß durch die Ausschaltung der Darmbakterien mittels Neomycin die Aromatisierung der Chinasäure blockiert war, was sich in einem Abfall der Hippursäurewerte äußerte.

Diese Ergebnisse konnten von anderen Autoren bestätigt werden (ASATOOR 1965, FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ 1966).

Während die Umwandlung der Chinasäure zu Shikimisäure bekannt ist, liegt der weitere Abbau der Shikimisäure über verschiedene unbekannte Zwischenprodukte im Dunkeln:



Die Tatsache, daß der menschliche Organismus Chinasäure über Benzoesäure in Hippursäure umzuwandeln vermag, macht verständlich, daß Chinasäurehaltige Nahrungsmittel die Hippursäureausscheidung beeinflussen.

Andere exogene Benzoesäurelieferanten unbekannter Herkunft sollen aromatische Bestandteile aus Gemüsen sein (BODEL

und Mitarb. 1959, COTRAN und Mitarb. 196o, PAGNOTTO und LIEBERMAN 1967, ADAMSON und Mitarb. 197o).

Daneben beeinflußt eiweißreiche Ernährung, vor allem die Aufnahme glykokollreicher Proteine, wie Elastin und Gelatine, positiv die Hippursäuresynthese (STRUWE 1953, FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ 1956).

3.2.1.1.2 Chemische Stoffe

Neben den Nahrungsmitteln kommen als zweiter exogener Faktor chemische Verbindungen in Betracht, wenn ihnen auch im allgemeinen mehr experimentelle Bedeutung zukommt.

So findet man in der Literatur zahlreiche, chemische Verbindungen aufgeführt, die möglicherweise zur Hippursäurebildung führen. Leider sind nur für wenige deren Beteiligung an der Hippursäurebildung bewiesen.

Unter den bewiesenen Ergebnissen hat die Zimtsäure eine Bedeutung wegen ihrer Verwendung beim SNAPPER-SALTZMANN-Test. Ähnlich wie beim QUICK-Test kann mit dieser Methode das Unvermögen des Organismus, die angebotene Zimtsäure zu Benzoesäure zu oxydieren bzw. diese mit Glykokoll zu paaren, auf indirektem Wege aufgedeckt werden.
Als weiteres Beispiel dienen Mescalin und D-Lysergsäure-

diäthylamid = LSD. Sie führen neben ihrer psychischen Wirkung auch zu pathophysiologischen Reaktionen, wenn sie in Rauschdosen verabreicht werden. Von besonderem Interesse ist das Verhalten der Leber als Entgiftungsorgan für diese Noxen. FISCHER und Mitarb. (1951) stellten an gesunden Versuchspersonen fest, daß im Laufe eines Mescalinrausches die Hippursäureausscheidung reduziert war als Anzeichen einer passageren Leberdetoxikationsstörung.

Ähnliches stellten CHILDS und LIEBERMAN (1964) an gesunden Versuchspersonen fest, denen sie geringe Mengen Alkohol zu trinken gaben. Sie bestimmten zuerst in Vorversuchen die Hippursäureausscheidung nach Gabe von 6 g Natriumbenzoat und 3 g Glycin, die in zwei Teilporionen im Abstand von einer halben Stunde verabreicht wurden, in zwei aufeinanderfolgenden 2-Stunden-Abständen. An einem anderen Tag wurden die gleichen Versuche, nur jetzt mit Zusatz geringer Mengen Whisky oder Gin wiederholt.

Man setzte 2 - 3 g Alkohol/kg Körpergewicht der Versuchspersonen an und verabreichte den Alkohol in einem Zeitraum von 4 - 6 Stunden vor Gabe des Natriumbenzoats und Glycins bis 4 Stunden danach.

CHILDS stellte fest, daß die Gesamtmenge der Hippursäureausscheidung in den 4 Stunden nach Verabreichung des Natriumbenzoats und vorheriger Alkoholeinnahme geringer

war als vergleichsweise bei den Vorversuchen.

Die Salicylsäure und einige ihrer Derivate, die Bestandteile zahlreicher Pharmaka sind, sollen noch erwähnt werden.
Die Salicylsäure wird vom menschlichen Organismus in unveränderter Form, teils als Gentisinsäure und Glucuronid oder mit Glykokoll gepaart als Salicylursäure (o-Hydroxyhippursäure) ausgeschieden. Beim Menschen soll der Abbau zu Salicylursäure der Hauptweg im Stoffwechsel der Salicylsäure sein (KNOEFEL und Mitarb. 1962, AMSEL und LEVY 1969).

Pharmaka beeinflussen organische Stoffwechselvorgänge; in welchem Maße sie sich jedoch auf die Hippursäuresynthese bzw. Ausscheidung auswirken, ist bis heute noch nicht vollständig geklärt.

Verschiedene Autoren (LA DOU und Mitarb. 1962, JOHANNSEN und Mitarb. 1962, VOLLGRAFF 1967 u.a.) halten bei der Durchführung des QUICK-Tests vor Testbeginn ein mehrtägiges medikamentenfreies Intervall für unbedingt erforderlich. Sie vermuten größere Einflüsse von dieser Seite, die sich nicht nur auf die allgemein bekannte, Hippursäurefördernde Wirkung von Salicylsäurepräparaten beschränken.

Praktische Aspekte, besonders für die forensische Toxikologie, standen bei den Untersuchungen von SCHMIDT unter Mitarbeit von WALZ, DEISEL und BURGDORF 1956 im Vordergrund. Er unternahm ausgedehnte Urinuntersuchungen nach Adalinaufnahme, einem Schlafmittel der Harnstoffreihe.

Bei erstmaliger Adalingabe oder bei erneuter Medikation nach längerer Pause von einigen Wochen soll eine erhöhte Benzoesäureausscheidung jeweils am darauffolgenden Tage zu beobachten sein.

Auch nach erstmaliger Verabreichung von Persedon, Cliradon, Barbituraten und verschiedenen Pyrazolonderivaten konnte SCHMIDT Benzoesäure im Urin feststellen.

Nach den Angaben von SCHMIDT und Mitarbeiter kommt freie Benzoesäure im Urin in stark wechselnden Mengen vor.

WALZ versuchte mittels Ätherextraktion des mit Weinsäure angesäuerten Urins die für Adalin spezifischen Ausscheidungsprodukte zu erfassen. Zur Trennung der Extrakte verwendete er vor allem die Vakuumsublimation.

Dabei fand er bei einer Sublimationstemperatur von 200°C konstant zwei Kristallarten in wechselnder Menge. Er glaubte festzustellen, daß diese beiden Kristalle im Adalinharn gegenüber dem Leerharn wesentlich vermehrt auftraten und nahm daher einen Zusammenhang dieser Stoffe mit der Adalinmedikation an.

Er teilte diese Kristalle in eine höher schmelzende Form und eine niedrig schmelzende Form ein.

Aus diesen Beschreibungen konnte DEISEL 1955 Hippursäure als die beiden Kristallarten charakterisieren. Bei der Vakuumsublimation war ihm aufgefallen, daß diese niedrig schmelzende Kristallfraktion erst bei Temperaturen über 2oo° C auftrat, obwohl sie bei ihrem Schmelzpunkt von 114° - 118° C schon vor der Hippursäure sublimieren müßte, was sie bei der Mikrosublimation auch tat. Es mußte eine Substanz sein, die erst bei hoher Temperatur, wahrscheinlich durch Zersetzung eines anderen Stoffes entstand. Soweit die Beobachtungen von DEISEL.

BURGDORF untersuchte die Einwirkung der Fäulnis auf Diäthoxalsäure und Adalin. Bei seinen Untersuchungen ergaben die Vakuumsublimationen der aus den frischen Harnen gewonnenen Extrakte eine starke Kristallausscheidung. Die Kristalle ließen sich durch Schmelzpunkt, Kristallform und Kristalloptik als Benzoesäure identifizieren. Bei den Restharnen, die inzwischen 2o - 3o Tage gestanden und gefault waren, konnte durch die Vakuumsublimation neben Diäthoxalsäure Benzoesäure nachgewiesen werden.

Diese Ergebnisse nehmen eine gwisse Sonderstellung ein, da normalerweise Benzoesäure mit Glycin gekoppelt als Hippursäure ausgeschieden wird. Selbst bei unphysiologi-

schen Mengen Benzoesäure bedient sich der Körper, abgesehen vom Abbauweg zu Hippursäure, des Reservemechanismus für die Eliminierung großer Mengen Benzoesäure, nämlich der Entgiftung zu Benzoylglucuronid.

Im Widerspruch zu den Aussagen von SCHMIDT stehen die Untersuchungen von ZIENER 1972, der in frischen Harnproben keine Benzoesäure nachweisen konnte. Neben den Verfahren der UV-Spektroskopie und der IR-Spektroskopie wandte er die Dünnschichtchromatographie an. Er führte sie auf Woelm-F-Platten mit einem speziell dafür entwickelten Laufmittel durch, das aus 8o ml Chloroform, 2o ml Cyclohexan, 1o ml Eisessig bestand. Nähere Angaben über das Prinzip der Dünnschichtchromatographie siehe bei "Versuchsanordnung und Methodik".

Lediglich im alten, nicht sogleich angesäuerten Harn, konnte ZIENER Benzoesäure nachweisen. Sie ist vermutlich das Produkt der Hippuricase, eines Enzyms, welches Hippursäure zurück in Benzoesäure und Glycin umwandelt (FLASCHENTRÄGER 1951).

3.2.1.2 Endogene Faktoren

Außer den eben genannten exogenen Faktoren, wie z.B. Nahrungsmittel, Medikamente, chemische Stoffe beeinflussen auch endogene Faktoren die Hippursäureausscheidung im Urin.

Zu diesen endogenen Faktoren gehören beispielsweise Stoffwechselerkrankungen, Parenchymschäden, Resorptionsstörungen. Daneben wirken auch Allgemeinerkrankungen, Funktionsstörungen im menschlichen Organismus indirekt auf die Hippursäureausscheidung, indem sie in unbestimmter Weise Leber und Niere in Mitleidenschaft ziehen.

Aufgrund der besonderen Bedeutung des Entgiftungsorgans Leber und des Ausscheidungsorgans Niere läßt sich bei Erkrankungen dieser Organe ein großer Komplex an Leber- und Nierenerkrankungen abgrenzen. Sie beeinträchtigen die Mobilisation des Glykokolls, die Paarung und Synthese der Hippursäure und den Ausscheidungsmechanismus. Eine Verminderung der Hippursäureausscheidung war besonders bei Kranken mit dekompensierten Nierenfunktionen, die bis zu loo % der verabreichten Benzoesäure nach 24 Stunden als solche wieder ausschieden, zu beobachten (FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ 1957).

Erniedrigte Ausscheidungswerte bestanden ferner bei Patienten mit Ikterus simplex, luetischer Zirrhose, chronischer Virushepatitis, Hyperthyreoidismus, Alkoholismus,

Diabetes, Stauungsleber, Leberinsuffizienz, Hämochromatose, rechtsseitiger Herzinsuffizienz (JOHANNSEN und Mitarb. 1962, VAN SUMERE und Mitarb. 1969).

Die Multiple Sklerose, die zu den häufigsten Nervenkrankheiten zählt, zeigt in ihrem Verlauf zunehmende Leber- und Nierenfunktionsstörungen. Deshalb nimmt die Detoxikationsfähigkeit des Organismus stetig ab entsprechend der Dauer der Krankheit, dem Alter des Patienten und der Chronizität des Leidens (VOLLGRAFF 1967).

Man ist sich darüber einig, daß die Leber eine zentrale Stellung im Schizophrenieproblem einnimmt und daß Störungen gewisser Leberfunktionen mit dem Verlauf schizophrener Schübe im Zusammenhang stehen können. Übereinstimmend werden verminderte Ausscheidungsraten von Hippursäure bei floriden schizophrenen Psychosen und akuten Schüben beschrieben (LEVY und SAVICH 1952, HOFFER und Mitarb. 1954, STRUWE 1956). Je größer die Erregung bei Schizophrenen, desto niedriger ist die Hippursäureproduktion (STRUWE 1956).

Auch psychische Faktoren beeinflussen die Hippursäureausscheidung. So findet die Bedeutung der Hippursäureausscheidung als zuverlässiger meßbarer Indikator für den psychischen Zustand der Angst als bleibendem Charakterzug ihre Verwendung in Psychiatrie und Psychologie.

Grundsätzlich zeigt bei furchtsamen Personen die Hippursäuremenge im Urin höhere Werte gegenüber den weniger ängstlichen (GEORGI 1950, LA DOU und Mitarb. 1962).

Während die Hippursäure unter gewöhnlichen Gesundheits- und Ernährungsbedingungen einen normalen Bestandteil des menschlichen Organismus darstellt, ist die Frage nach einer endogen, auch ohne äußere Einflüsse gebildeten Hippursäure noch ungeklärt.

Auch unter einer weitgehend benzoesäurefreien Diätkost konnte ein gewisser, gegen den Normalwert stark verringerter Ausscheidungswert an Hippursäure nachgewiesen werden (ARMSTRONG und Mitarb. 1955).

Die endogen produzierte Benzoesäure soll aus Phenylalanin, einer essentiellen Aminosäure, entstehen, wie GRÜMER 1961 mit C^{14} markiertem Phenylalanin in Rattenversuchen zeigen konnte.

3.2.2 Der QUICK-Test

Das Detoxikationsvermögen von Leber und Niere nach Benzoesäuregabe spiegelt sich wieder in der Höhe der Ausscheidungsrate an Hippursäure. Um diese Leistung quantitativ zu erfassen, findet das Verfahren nach QUICK als Leberfunktionsprobe besonders wieder in Psychiatrie und Neurologie verbreitet Anwendung.

Hierbei ist die Menge ausgeschiedener Hippursäure bei Fehlen von exogenem Glycin durch den von der Leber maximal vorhandenen Glycinvorrat begrenzt (STRUWE 1953). Leberschädigungen, die diese maximale Glykokollrate beeinflussen können, kennzeichnen sich demnach in einer veränderten Hippursäureausscheidung.

Der klassische QUICK-Test prüft dabei die Glykokollmobilisationsfähigkeit der Leber und stellt ein Maß für die Geschwindigkeit dar, mit welcher der Organismus die zugeführte Benzoesäure durch Paarung mit Glykokoll zu entgiften vermag (GEORGI 195o).

Ein pathologisch erniedrigter Ausscheidungswert kann einmal aus einer fehlerhaften Leberfunktion allein, zum anderen aus einer fehlerhaften Nierenfunktion, d.h. aus einer gestörten Kopplungsfunktion resultieren. Der klassische QUICK-Test gibt nur über eine verminderte Hippur-

säureausscheidung Auskunft, macht aber keine Aussage darüber, ob es sich um einen Defekt der Glykokollmobilisation (Leber), der Synthese (Leber und Niere) oder der Mobilisation und der Synthese (Leber und Niere) handelt.

Um diese Unklarheit auszuschalten muß man zusätzlich den modifizierten QUICK-Test durchführen, bei dem zum Natriumbenzoat eine doppelt - oder äquimolare Menge Glykokoll verabreicht wird. Diese beiden Variationen sind gebräuchlich. Vor der Durchführung der Tests soll der Proband am Vorabend des Versuches eine hafer- und obstfreie Mahlzeit einnehmen.

Am nächsten Morgen wird der Morgenurin verworfen, und es erfolgt eine völlige Blasenentleerung. Der Proband erhält ein leichtes, benzoesäurefreies Frühstück und das Natriumbenzoat oral oder intravenös appliziert.

Es folgt Sammeln des Urins und quantitative Bestimmung der Hippursäure.

Zwischen dem klassischen und modifizierten QUICK-Test ist eine Pause von einem Tag erforderlich um die Versuchsergebnisse nicht zu verfälschen (VOLLGRAFF 1967).

3.3 Dritter Teil

Eigene Untersuchungen

3.3.1 Versuchsvorbereitungen

3.3.1.1 Gesundheitliche Voraussetzungen der Versuchsperson

Bei den Eigenuntersuchungen müssen alle endogenen Faktoren, welche die Hippursäuresynthese oder -ausscheidung in irgendeiner Weise beeinflussen, ausgeschaltet werden, da es sonst zu einer Verfälschung der experimentellen Versuchsergebnisse kommen kann (siehe 3.2.1.2). Der Verfasser erfüllte diese Bedingungen.

3.3.1.2 Versuchsanordnung und Methodik

Versuchsanordnung

Es wurden insgesamt 109 Urinproben untersucht, davon entfielen 50 auf eine durch Diätkost herbeigeführte Diätphase. Die übrigen Urinproben entstammten regelmäßigen Mahlzeiten; die eingenommenen Speisen und Getränke wurden in einem nach Uhrzeit und Kalendertag genau geführten Speisenplan festgehalten.

Jeweils 5 zusätzliche Urinproben aus dem Miltaun- und dem Alkoholtest am gleichen Versuchstag konnte

der Autor für seine Hippursäurebestimmung gewinnen und analysieren.

Nach Beendigung der Diätphase bestimmte der Verfasser in lo folgenden Urinproben den sich stetig verändernden Hippursäurespiegel im Urin.

Für seine Bestimmungen gewann er zwei Urinproben pro Tag, wobei die Abend- und die Morgenprobe des nächstfolgenden Tages den Gesamtausscheidungswert für einen Tag darstellten.

Methodik

Gewinnung und Aufbereitung der Urinproben

Die frischen Urinproben werden sofort mit 2o % Weinsäure - loo g Weinsäure in fester Form ad 5oo ml aqua dest. - angesäuert (pH 2 - 3) und gekühlt. Somit kann die Tätigkeit der Hippuricase, die ein Wirkungsoptimum bei pH 6,8 - 7,o hat, ausgeschaltet werden (FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ 1951).

Bis zur Aufarbeitung sollen die einzelnen Proben mindestens 1 - 1,5 Stunden gekühlt werden.

25 ml jeder Urinprobe werden mit 5o ml Äther ausgeschüttelt. Die wässrige Phase (Harn) wird abgelassen. Der Ätherextrakt wird mit Natriumsulfat (2 -3 Teelöffel)

wasserfrei gemacht. Man wiederholt diesen Arbeitsgang noch zweimal, bis ein Ätherextrakt von 15o ml gewonnen ist, der anschließend filtriert und vorsichtig im Wasserbad abgedampft wird, bis ein rötlich-brauner Kristallrückstand am Boden des zum Verdampfen verwandten Schälchens übrigbleibt. Dazu wird mit einer Pipette 1 ml Alkohol gegeben.

Es erfolgt Auflösen des Extraktes durch den Alkohol.

Von dieser Alkohollösung wird mit einer Blutzuckerpipette o,1 ml aufgesogen und davon o,o4 ml auf eine Kieselgel-Platte (SiO_2F 254/366 der Firma Woelm) aufgetragen und mit dem Föhn eingetrocknet. Dieser Arbeitsgang muß zügig vonstatten gehen, da der Alkohol schnell verdampft.

Zum Vergleich der Laufgeschwindigkeiten trägt man am linken Plattenrand 1 Tropfen Benzoesäurelösung, am rechten Plattenrand 1 Tropfen Hippursäurelösung als Vergleichslösungen auf und trocknet sie mit einem Föhn ein.

Herstellen der Vergleichslösung:

Eine kleine Spatelspitze Hippur- und Benzoesäure in ca. lo ml Alkohol gelöst.

Von jeder Urinprobe werden 2 Analysen aufgetragen, vorher erfolgt Beschriften der einzelnen Proben.

Die Platte wird zur dünnschichtchromatographischen Trennung in ein Laufmittelgemisch, bestehend aus

8o ml Chloroform
2o ml Cyclohexan
1o ml Eisessig

im Verhältnis 8 : 2 : 1, gestellt (ZIENER 1972).

Verwendet wurden mit Kieselgel G (G = Gips, Bindemittel) beschichtete Glasplatten der Firma Woelm SiO_2F 254/366.

Stationäre Phase ist hier eine feste Substanz (fest-flüssig Chromatographie), Kieselgel $(SiO_2)_n$, das bei einem Korndurchmesser von o,1 bis o,2 mm infolge zahlreicher Poren eine Gesamtoberfläche von 3oo - 5oo m^2/g besitzt.

Diese Oberfläche ist polar, da an Kanten, Bruchstellen und Ecken die Kräfte des Kristallgitters nach außen wirken. Adsorbiert werden polare oder polarisierbare Substanzen, die über elektrostatische Kräfte reversibel an das polare Adsorbens gebunden werden.

Die Wanderung kommt dadurch zustande, daß die Fließmittelkomponenten (Chloroform, Cyclohexan, Eisessig), die sich nach zunehmender Polarität zur elutropen Reihe ordnen lassen (hier: Cyclohexan, Chloroform, Eisessig), mit der adsorbierten Substanz um die Bindungsstellen am Adsorbens konkurrieren und sie von diesem verdrängen.

Die Trennung der Stoffe erfolgt somit nach der Polarität ihrer funktionellen Gruppen.

Die Polarität des Fließmittels muß den funktionellen Gruppen im zu trennenden Stoffgemisch angepaßt sein. Carboxylgruppen zeigen eine hohe Polarität und werden daher besonders stark adsorbiert (Benzoesäure, Hippursäure). Da jedoch die Hippursäure eine größere Molekülstruktur besitzt als die Benzoesäure, und mehr Zeit benötigt, um von ihrer Adsorptionsstelle verdrängt zu werden, bleibt sie näher der Startlinie liegen.

Obwohl die Papierchromatographie sich in gleicher Weise zur qualitativen Analyse eignet, liegt ihr Nachteil in einer größeren Diffusion der aufgetragenen Probe, die einerseits größere Flecken mit geringerer Konzentration und damit einen höheren Substanzbedarf bedingt, andererseits aber vor allem durch geringere Trennschärfe wesentlich längere Entwicklungszeiten erfordert.

Da bei der späteren Wiederfindung sowohl der Benzoe- wie der Hippursäure eine große Trennschärfe nötig war, wurde das Verfahren der Dünnschichtchromatographie angewandt. Mit ihm war es möglich, Hippursäure und Benzoesäure deutlich zu trennen.

Die Wanderungsgeschwindigkeiten von Benzoe- und Hippursäure werden durch ihre Rf-Werte gekennzeichnet:

Gefundener Rf-Wert Benzoesäure im Experiment: 0,61/0,62
" " Hippursäure " : 0,12/0,13

Um Kammersättigung in der Kammer zu erreichen, soll ein Papier eingelegt und mit Laufmittel befeuchtet werden.

Das Laufmittelgemisch ist für jede Kieselgelplatte neu anzusetzen, da sonst Lösungsmittelanteile verfliegen.

Nach einer Laufzeit von ca. 1,5 - 2 Stunden werden die Substanzen chromatographisch aufgetrennt. Die Laufstrecke beträgt ca. 18 cm.

Nach Herausnahme wird die Platte getrocknet. Unter der UV-Lampe kann man nach Entwicklung die gewanderten Flecken umranden (Woelm-F-Platte, F = fluoreszierend) und abkratzen. Aus der Lage der mitgewanderten Vergleichsflecken läßt sich die Lage der Hippur- und Benzoesäure genau erkennen. Die gewonnenen Flecken (Hippursäure) zeigen meist nierenförmige Gestalt. Die ausgekratzten Zonen werden in Zentrifugengläsern mit je 5 ml Boratpuffer eluiert.

Herstellen der Boratpufferlösung:

Lösung A	6 Teile:	Lösung B	4 Teile:
Boratlösung:	12,4o4 g Borsäure loo ml 1 n NaOH ad looo ml aqua dest.	o,1 n NaOH :	Titrisol

Der Kieselgel-Boratpufferansatz wird 15 Minuten stehen gelassen, um die Hippursäure zu eluieren. Danach werden die Kieselgelpartikelchen in 5 Minuten bei 12oo U/Min abzentrifugiert. Von der klaren, überstehenden Flüssigkeit wird

1 ml in ein sauberes Reagenzglas gefüllt (Vorsicht beim Aufziehen mit der Pipette, da Zentrifugat aufgewühlt wird). Diesen 1 ml verdünnt man bei Bedarf mit Boratpuffer und bringt davon 1 ml in eine besondere Küvette (Quarz-Küvette, QI).

Als Vergleichslösung dient reiner Boratpuffer in einer zweiten Quarzküvette. Nun wird die Analyse im Vergleich zu reinem Boratpuffer zur ersten photometrischen Messung herangezogen. Es wird ein Wellenbereich von 36o - 21o nm durchlaufen. Ist der Ausschlag zu groß, muß bis zur geeigneten Messung weiter verdünnt werden. Die Verdünnung ist sofort zu notieren.

Bei passender Verdünnung ergibt sich eine Kurve mit steilem Anstieg von 34o - 285 nm und anschließend flachem Anstieg bis zu einem Maximum, das meist bei 226 nm lag. (Idealer Wert der Extinktionskurve im Boratpuffer liegt bei 227 nm).

Ein beobachtetes Minimum lag bei 212 nm.

Zweite Messung: Man nimmt jetzt die in der Quarzküvette befindliche Puffer-Analysenlösung und versetzt sie mit 2 Tropfen (1 ml-Pipette) frischer konzentrierter NaOH. Gut durchschütteln und abwarten, bis die leicht getrübte Lösung wieder klar ist. Der pH-Wert beträgt jetzt ca 14. Die NaOH-Kurve liegt unter der Boratpufferkurve, läuft

ihr bis zu deren Maximum parallel und flacht sich dann fast waagerecht ab.

Dritte Messung: Die alkalische Lösung wird mit 5 Tropfen konzentrierter H_2SO_4 angesäuert (pH-Wert ca. 1 - 2), wobei sich das Indikatorpapier deutlich röten muß. Es muß gewartet werden, bis die Erwärmung durch die Neutralisationsreaktion zurückgegangen ist. Die Kurve schneidet die Boratpuffer- und die NaOH-Kurve zweimal und hat bei 225 nm (idealer Wert liegt bei 226,7 nm) ihr Maximum.

Die zweite und dritte Messung dienen als Kontrollmessungen zur qualitativen Sicherung der Substanz.

Die auf der Kurve festgehaltenen Extinktionswerte können im Maximum der BP-Kurve abgelesen und mit einer für diesen Zweck aufgestellten Eichkurve berechnet werden, in der die Extinktionen einer entsprechenden /ug-Menge zugeordnet sind.

Die Menge von o,o4 ml der auf die Platte aufgetragenen Analysenlösung ist zu den 25 ml einer Urinprobe so gewählt, daß man direkt auf den Hippursäuregehalt in /ug von 1 ml Urin schließen kann.

Daneben ist nur noch der Verdünnungsfaktor zu berücksichtigen.

Tabelle 1: Ergebnisse aus den Vorversuchen mit Hippursäure (1o.11.71 - 19.11.71)

Urinproben-Nummer	Menge ml	Extinktion der Borat-pufferkurve	Verdünnungs-faktor	Hippursäure			Tagesmenge in gesamt
				/ug/ml	mg %	mg	mg
1o/I	27o	o,98	4o	2o,o	8o,o	216,o	216,o
1o/II	32o	o,88	25	17,9	44,75	143,2	399,61
11/1	37o	o,97	35	19,8	69,3	256,41	
11/II	47o	o,88	15	18,o	27,o	126,9	497,89
12/I	37o	o,94	52,5	19,1	1oo,27	37o,99	
12/II	39o	o,92	3o	18,8	56,4	219,96	437,94
13/I	36o	o,85	35	17,3	6o,55	217,98	
13/II	27o	o,95	5o	19,3	96,5	26o,55	877,65
14/I	55o	1,o	55	2o,4	112,2	617,1	
14/II	57o	o,68	2o	13,9	27,8	158,46	39o,o6
15/I	48o	o,95	25	19,3	48,25	231,6	
15/II	53o	1,o1	35	2o,6	72,1	382,13	587,85
16/I	4oo	o,92	27,5	18,7	51,43	2o5,72	
16/II	45o	o,73	15	14,9	22,35	1oo,58	2o6,14
17/I	58o	o,45	2o	9,1	18,2	1o5,56	
17/II	38o	o,88	22,5	18,o	4o,5	153,9	319,9
18/I	5oo	o,81	2o	16,6	33,2	166,o	
18/II	48o	o,85	37,5	17,3	64,87	311,38	61o,84
19/I	465	o,79	4o	16,1	64,4	299,46	

II = Abendprobe I = Morgenprobe

Tabelle 1: Ergebnisse aus den Vorversuchen mit Hippursäure (19.11.71 - 26.11.71)

Urinproben-Nummer	Menge ml	Extinktion der Borat-pufferkurve	Verdünnungs-faktor	Hippursäure			Tagesmenge in gesamt mg
				µg/ml	mg %	mg	
19/II	36o	o,97	45	19,8	89,1	32o,76	45o,24
2o/I	52o	o,81	15	16,6	24,9	129,48	
2o/II	515	o,94	35	19,1	66,85	344,28	583,48
21/I	65o	o,9o	2o	18,4	36,8	239,2	
21/II	36o	o,37	2o	7,6	15,2	54,72	155,61
22/I	38o	o,87	15	17,7	26,55	1oo,89	
22/II	35o	o,91	5o	18,5	92,5	323,75	384,5
23/I	3oo	o,66	15	13,5	2o,25	6o,75	
23/II	34o	o,46	15	9,4	14,1	47,94	14o,86
24/I	46o	o,5	2o	1o,1	2o,2	92,92	
24/II	44o	o,86	5o	17,6	88,o	387,2	824,78
25/I	36o	o,92	65	18,7	121,55	437,58	
25/II	69o	o,76	25	15,6	39,o	269,1	421,24
26/I	23o	o,93	35	18,9	66,15	152,14	

II = Abendprobe I = Morgenprobe

Tabelle 1: Ergebnisse aus den Vorversuchen mit Hippursäure (26.11.71 - 4.12.71)

Urinproben-Nummer	Menge	Extinktion der Boratpufferkurve	Verdünnungsfaktor	Hippursäure			Tagesmenge in gesamt
				/ug/ml	mg %	mg	mg
26/II	42o	o,87	25	17,7	44,25	185,85	576,45
27/I	45o	1,o7	4o	21,7	86,8	39o,6	
27/II	73o	o,34	25	6,9	17,25	125,92	598,97
28/I	47o	o,9	55	18,3	1oo,65	473,o5	
28/II	57o	o,82	2o	16,8	33,6	191,52	485,52
29/I	42o	o,98	35	2o,o	7o,o	294,o	
29/II	33o	o,88	37,5	18,o	67,5	222,75	358,5
3o/I	5oo	o,89	15	18,1	27,15	135,75	
3o/II	4oo	o,72	5	14,6	7,3	29,2	31o,86
1/I	555	1,o	25	2o,3	5o,75	281,66	
1/II	48o	1,o	2o	2o,3	4o,6	194,88	249,o6
2/I	42o	o,63	1o	12,9	12,9	54,18	
2/II	39o	o,83	25	16,9	42,25	164,78	332,18
3/I	45o	o,91	2o	18,6	37,2	167,4	
3/II	3oo	o,92	25	18,7	46,75	14o,25	234,18
4/I	32o	o,97	15	19,7	29,55	94,56	

II = Abendprobe I = Morgenprobe

3.3.1.3 Wiederfindungsversuche mit Hippursäure

Mit Hilfe der Wiederfindungsversuche soll die Tauglichkeit und Genauigkeit der einzelnen Messungen überprüft und die Schwankungsbreite von Meßfehlern gezeigt werden.

Versuchsanordnung:

Bei 1o aufeinanderfolgenden Urinproben (siehe Tab. 2, S.49 Spalte 1 und 2) wurde nach der auf Seite 36 beschriebenen Methodik die Menge an Hippursäure in /ug für 25 ml Urin berechnet.

Von den gekühlten und angesäuerten 1o Urinproben wurden wiederum je 25 ml genommen und mit ca. 5o % der vorher errechneten Hippursäuremenge versetzt.

Nach der Formel $\frac{(x - a) \cdot 1oo}{b}$

a = Gefundene /ug-Menge in 25 ml (Ausgangsprobe)

b = Dazugegebene /ug-Menge (ca. 5o %)

x = Wiedergefundene /ug-Menge in 25 ml (Ausgangsprobe nach Zusatz von 5o % Hippursäure)

führte der Autor 1o Wiederfindungsversuche mit Hippursäure durch. Die jetzt gefundenen /ug-Mengen (siehe Tab. 2, Spalte 7) wurden zu den ca. 5o % zugeführten /ug Hippursäure in Relation gesetzt, in dem die Wiederfindung der ursprünglich vorhandenen Gesamtmenge (Ausgangsprobe)

als gleichbleibend vorausgesetzt wurde. Damit konnte die Genauigkeit der einzelnen Messungen überprüft und die Wiederfindungsrate prozentual wiedergegeben werden. Diese betrug 76,64 %.

Ergebnisse der Wiederfindung siehe Tabelle 2, S. 49.

Fehlerquellen:

Um erfolgreiche Messungen durchzuführen, war auf die Beseitigung folgender Fehlerquellen zu achten:

1. Genaues Abmessen der 25 ml Urin
2. Genaues Trennen der wässrigen und der ätherischen Phase
3. Achten auf jeden Tropfen Flüssigkeitslösung
4. Richtiges Einlegen des Filterpapiers - Filter anfeuchten - nicht in die Mitte des Filters gießen
5. Vorsichtiges Abdampfen des Äthers
6. Nicht zuviel Äther in das Verdampfungsschälchen füllen, damit der Kristallrückstand möglichst kleine Rückstandfläche hat und deshalb leichter und vollständiger vom Alkohol gelöst werden kann
7. o,o4 ml Alkohol-Extraktlösung vollständig auf die Kieselgelplatte bringen
8. Vor der chromatographischen Trennung Analysenflecken trocknen
9. Laufmittelgemisch vor jeder Trennung neu ansetzen
10. Laufzeit der Platte beachten - nicht zu kurz laufen lassen, da sonst Verunreinigungen (zu geringe Trennung der Substanzen) die Meßwerte verändern

11. Ausgekratzte Flecken zeitgleich eluieren lassen, da ungleiche Elutionszeiten ungleiche /ug-Mengen bedingen

12. Vorsicht beim Aufziehen der klaren, überstehenden Flüssigkeit (Eluat)

13. Stets auf sauberen Puffer und saubere Vergleichslösungen und auf

14. Verunreinigungen der NaOH und der H_2SO_4 achten.

Tabelle 2: Ergebnisse der Wiederfindungsversuche mit Hippursäure (25.11.71 - 3o.11.71)

Urin-proben-Nummer	Gefundene µg-Menge in 25 ml = a (Ausgangs-probe)	Dazu-gegebene µg-Menge ca. 5o % = b	Extinktion der Aus-gangsprobe nach Zusatz (BP-Kurve)	Hippursäure µg/ml Urin	Ver-dünnungs-faktor	Gefundene µg-Menge in 25 ml = x	Wiederfin-dung in % nach Formel $\frac{(x-a)\cdot 100}{b}$
25/II	975o	5ooo	o,935	19,o	27,5	13o62,5	66,2 %
26/I	16538	85oo	1,oo	2o,3	45	22838	74,1 %
26/II	11o63	55oo	o,925	18,8	32,5	15275	76,5 %
27/I	217oo	1o5oo	o,96	19,5	6o	2925o	71,9 %
27/II	4313	2ooo	o,46	9,3	25	5813	75,o %
28/I	25163	125oo	o,925	18,8	75	3525o	8o,7 %
28/II	84oo	45oo	o,99	2o,1	25	12562,5	92,5 %
29/I	175oo	9ooo	o,98	19,9	5o	24875	81,9 %
29/II	16875	85oo	1,oo	2o,3	45	22838	7o,1 %
3o/I	6788	35oo	o,935	19,o	2o	95oo	77,5 %

Die Wiederfindung betrug im Durchschnitt 76,64 %

II = Abendprobe

I = Morgenprobe

3.3.1.4 Wiederfindungsversuche mit Benzoesäure

Während SCHMIDT 1956 von einem Auftreten freier Benzoesäure im Urin sprach, konnte der Verfasser in keinem der bisher durchgeführten Versuche das Auftreten freier Benzoesäure nachweisen. Er führte Versuche mit frischem Urin durch, den er 16 Stunden lang verschlossen, offen und ohne Weinsäurezusatz stehen ließ.

Dennoch war es ihm unmöglich, Benzoesäure auch nur in geringsten Spuren nachzuweisen.

Die Nachweisgrenze auf der Platte bei spektrophotometrischer Bestimmung lag für Benzoesäure bei 5 µg.

Um die Nachweisbarkeit von Benzoesäure zu führen, konnte er in 18 Wiederfindungsversuchen mit verschieden hohen Dosen zugeführter Benzoesäure nachweisen, daß auch geringste Mengen Benzoesäure, nämlich 5 µg, mit dem dünnschichtchromatographischen Verfahren erfaßt und von anderen Substanzen getrennt werden konnten. Unter der UV-Lampe liegt die Nachweisgrenze bei 1 - 2 µg pro Fleck.

Versuchsanordnung:

In 18 Versuchen wurde zu je 25 ml verschiedener Urinproben, die gekühlt und angesäuert waren, Benzoesäure in Dosen von 3500 - 500 µg zugegeben. Die Methodik glich den bisherigen Versuchen, lediglich in der Laufzeit des Fließ-

mittelgemisches bestand ein Unterschied. Der Autor ließ die Platte über 15 Minuten laufen, da sich Benzoesäure sehr rasch abtrennt (vgl. Rf-Wert von Benzoesäure mit Rf-Wert von Hippursäure Seite 39).

Anhand der mitgewanderten Kontrollproben war die Benzoesäure deutlich zu erkennen. Ihre Flecken hatten sichelförmige Gestalt.

Die Extinktionskurve in Boratpuffer stieg zunächst steil an, hatte bei 25o nm eine Schulter und flachte dann langsam ab. Ihr Maximum lag bei den Versuchen bei 22o nm (221 nm = theoretischer Wert).

Das Maximum der Extinktionskurve in schwefelsaurem Milieu (H_2SO_4) lag bei einer um 8 Einheiten höheren Wellenlänge und schnitt mit ihrem absteigenden Ast sehr oft das Maximum der Boratpufferkurve. Die NaOH-Kurve lief parallel zur Boratpufferkurve und flachte sich bei deren Maximum fast bis zur Waagerechten ab.

Fehlerquellen

Sie wurden schon bei der Wiederfindung mit Hippursäure erwähnt. Die größte Fehlerquelle bei Benzoesäurewiederfindung lag in der Elutionsdauer mit Boratpuffer. Während bei einer Elutionsdauer von 5 Minuten nur ein Teil der Benzoesäure aus dem Kieselgel eluiert wurde, erzielten

Zeiten von 15 - 2o Minuten weitaus bessere Resultate.

Um ein einheitliches Zeitmaß zu haben, legte der Autor die Elutionsdauer bei allen Benzoesäureanalysen auf eine halbe Stunde fest.

Im Mittel wurden 75,87 % der ursprünglich zugeführten Benzoesäure wiedergefunden.

Die Ergebnisse der Wiederfindungsversuche mit Benzoesäure sind auf Seite 53 in Tabelle 3 enthalten.

3.3.1.5 Nachweisgrenze von Benzoesäure

In weiteren lo Versuchen gelang es Benzoesäuremengen bis zu einer Grenze von 5 /ug UV-spektrophotometrisch nachzuweisen. Niedrigere Werte konnten mit dem UV-Spektralphotometer von BECKMAN nicht mehr erfaßt werden.

Hätte der Autor bei seinen Untersuchungen Benzoesäure über 5 /ug gefunden, wäre ein Nachweis sichergestellt gewesen. Benzoesäure war jedoch in keiner Urinprobe nachzuweisen. Die Nachweisgrenze auf der dünnschichtchromatographischen Platte liegt unter der UV-Lampe sogar bei 1 - 2 /ug pro Fleck.

Die Einzelergebnisse der Nachweisgrenze von Benzoesäure sind in Tabelle 4 auf Seite 54 enthalten.

Tabelle 3 : Ergebnisse der Wiederfindungsversuche mit Benzoesäure

N = November 1971 D = Dezember 1971
I = Morgenprobe II = Abendprobe

Urin-proben-Nummer	Dazu-gegebene µg-Menge Benzoe-säure	Extink-tion d. Borat-puffer-kurve	Benzoe-säure µg/ml	Verdün-nungs-faktor	Gefun-dene µg-Menge in 25 ml Urin	%-Anteil d.Wieder-findung d. Ausgangs-menge
N 21/I	3500	0,965	12,875	10	3218,75	91,1 %
N 26/I	3000	0,75	10,187	10	2546,87	84,8 %
D 7/1	3000	0,72	9,75	10	2437,5	81,2 %
N 20/II	2500	0,62	8,5	10	2125,0	85,0 %
N 22/II	2500	0,59	8,125	10	2031,25	81,2 %
N 30/I	2500	0,55	7,625	10	1906,25	76,2 %
D 6/II	2000	0,425	5,593	10	1398,44	69,9 %
D 8/II	2000	0,41	5,312	10	1328,13	66,4 %
D 7/I	2000	0,43	5,687	10	1421,87	70,1 %
D 2/ II	1500	0,63	8,625	5	1078,12	71,1 %
D 8/I	1500	0,68	9,25	5	1165,25	77,1 %
D 9/I	1500	0,725	9,812	5	1226,56	81,7 %
N 29/II	1000	0,56	7,75	5	968,75	96,8 %
D 10/II	1000	0,385	4,906	5	613,25	61,3 %
D 11/II	1000	0,34	4,187	5	523,44	52,3 %
D 9/I	500	0,26	2,675	5	334,37	66,8 %
D 12/I	500	0,29	3,25	5	406,25	81,0 %
D 12/II	500	0,27	2,875	5	539,38	71,8 %

Die Wiederfindung betrug im Durchschnitt 75,87 %

Tabelle 4: Ergebnisse zur Bestimmung der Nachweisgrenze von Benzoesäure

Es wurden die Urinproben D 18/I und D 19/I verwandt

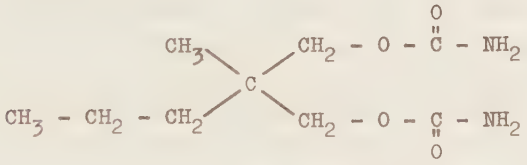
D = Dezember 1971

Benzoesäure in 25 /ug ad ml Urin	Extinktion der Borat-pufferkurve	Verdünnungs-faktor	Benzoesäure /ug/ml	Wiederfindung in /ug	%-Anteil der Wiederfindung der Ausgangs-menge
1oo	o,21	1,5	2,125	79,68	79,68 %
8o	o,162	1,5	1,625	6o,94	7o,6 %
7o	o,13	1,5	1,312	49,2o	7o,3 %
6o	o,14	1,5	1,4o6	52,73	8o,8 %
5o	o,12	1,5	1,187	44,51	89,o %
4o	o,o8	1,5	o,75	28,13	7o,3 %
3o	o,o2	1,5	o,187	7,o1	23,o %
2o	o,o3	1,5	o,256	9,6	48,o %
1o	o,o3	1,o	o,256	6,4	64,o %
5	o,o15	1,o	o,125	3,125	62,4 %

Die Nachweisbarkeitsgrenze von Benzoesäure lag für Spektralphotometrie bei 5 /ug

3.3.1.6 Wahl des Pharmakons

Als Medikament wurde das Transquillans M i l t a u n ® (Meprobamat) ausgesucht. Meprobamat (Systematischer Name: 2-Methyl-2-propyl-1,3-hydroxy-propan-dicarbamat) enthält keinen Benzolring und von ihm ist nicht bekannt, daß seine Einnahme eine vermehrte Hippursäureausscheidung bedingt (KADELBURG 1971).



Indikation:

Angst-, Erregungs- und Spannungszustände sowie Schlafstörungen verschiedener Ursache, prämenstruelle Spannungszustände, reaktive Depressionen, unterstützende Therapie bei emotionell bedingten Tachykardien. Asthma bronchiale. Juckende Dermatosen, Muskelspasmen vor operativen Eingriffen, Geburtserleichterung (ROTE LISTE 1971).

Pharmakologie:

Meprobamat gehört in die Gruppe der Tranquillantien, die Angst- und Spannungszustände sowie Zwangsvorstellungen ohne hypnotische Nebenwirkungen beseitigen sollen. Die Tranquillantien gehören in die Gruppe der Psychopharmaka.

Meprobamat hat eine hemmende Wirkung auf Hirnstamm, basale Ganglien, Thalamus und auch auf polysynaptische Reflexe. Beim Menschen wurde eine Hemmung emotioneller Reaktionen ohne eine Beeinträchtigung der Geschicklichkeit, Reaktionsfähigkeit und Denkfähigkeit beschrieben.

Bei längerer Medikation von Meprobamat sind aber auch Abnahme intellektueller Leistungsfähigkeit, Antriebsverminderung, affektive Verflachung, Wurstigkeit, Minderung der Reizbarkeit,Abgleiten aus der Verantwortung zu erwarten.

Das Mittel, das häufig bei seelischen Spannungszuständen und bei psychomotorischen Erregungen gegeben wird, wird nach oraler Gabe gut resorbiert, nach 1 - 2 Stunden ist im Blut das Maximum erreicht, nach 24 Stunden ist dort nur wenig nachweisbar (KUSCHINSKY, LÜLLMANN 197o).

Die Dosierung ist dreimal täglich o,2 g bis viermal täglich o,4 g per os.

Herstellung und Vertrieb:
Heinrich Mack Nachf. Illertissen/Bayern

Zusammensetzung: 1 Dragee 4oo mg Meprobamat.

3.3.2 Versuchsdurchführung

3.3.2.1 Vorversuche (Leerwert)

Die Vorversuche hatten die Aufgabe, die individuellen Normalwerte der Hippursäureausscheidung bei der Versuchsperson festzustellen:

Hippursäuremenge in mg je Urinprobe
Hippursäuremenge in mg % "
Hippursäuremenge in mg/Tag (die Tagesmenge setzte sich aus der Abendprobe und der Morgenprobe des nächstfolgenden Tages zusammen).

Die Vorversuche, die sich über einen Zeitraum von 25 Tagen erstreckten, sollten deutlich die Schwankungsbreite der täglichen Hippursäureausscheidung demonstrieren. Siehe graphische Darstellung Seite 81.

Die Ernährung erfolgte durch Normalkost.

Um später mögliche Aussagen über die einzelnen Werte machen zu können, wurde ein genauer Speisenplan geführt, der neben dem Datum und der Uhrzeit, Menge und Zusammensetzung der Speisen enthält. Auch die Getränke sind darin festgehalten (siehe Seite 72).

Während der Vorversuche nahm die Versuchsperson keine Medikamente ein.

Die tägliche Urinausscheidung beschränkte die Versuchsper-

son auf 2 Urinproben, die jeweils um 7 Uhr früh und 19 Uhr abends erhalten wurden.

Die Abendprobe und die Urinprobe am Morgen des nächstfolgenden Tages wurden für die Berechnung zu einem Tageswert zusammengelegt. Diese Zusammenlegung hatte den Sinn über einen etwaigen Tages- bzw. Nachtrhythmus Aussagen machen zu können.

Die Versuchsperson sammelte die einzelnen Urinproben mit Angabe über Datum und Menge.

Es erfolgte sofortige Kühlung und Ansäuerung bis zur Untersuchung.

3.3.2.2 Diätversuche

Um Aussagen über den Einfluß von Miltaun und Alkohol auf die tägliche Hippursäureausscheidung zu erhalten, mußte der tägliche Hippursäurewert ein konstantes Niveau erreichen. Das erzielte der Autor durch Einhalten eines genau ausgedachten "Diätplanes", der den Anforderungen eines konstanten Wertes gerecht wurde.

Diätplan

Wie bereits auf Seite 21 erwähnt, wird die Umwandlung von Chinasäure in Benzoesäure diskutiert. Da Backpflaumen, Kaffee, Preißelbeeren, Brombeeren, Stachelbeeren, Zucker-

rüben, Äpfel, Birnen, Pfirsiche, Aprikosen Hauptlieferanten der Chinasäure sind, war ihre Einnahme während der Diätphase nicht gestattet.

Neben Obst kommt Chinasäure in verschiedenen Gemüsen vor. Auch diese durften nicht eingenommen werden. Die folgende Aufstellung zeigt zusammenfassend all' die Nahrungsmittel und Getränke, deren Einnahme untersagt war, um einen konstanten Diätwert nicht zu gefährden:

1. Keinerlei Obst
2. Keine Gemüse und Salate
3. Keine Gewürze
4. Keine Vitamine (Vit-Tabletten)
5. Keinen Alkohol (Wein, Bier etc.)
6. Keinen Tee
7. Keinen Kaffee, keine Fruchtsäfte
8. Keine Konserven, die mit Benzoesäure konserviert waren, z.B. Seelachs, Fische aller Art etc.
9. Keine Medikamente !

Der Genuß von Fleisch, Kartoffeln und proteinreicher Kost war dagegen gestattet.

Der Proband verzehrte in der 28 Tage dauernden Diätphase stets die gleichen Nahrungsmittel, die aus Milch (Vitamine !), Sprudel, Butter, Quark, Käse, gekochten Kartoffeln bestanden.

Das Frühstück um 8 Uhr setzte sich aus 1 - 3 Tassen warmer Milch, 1 Stück Brot mit Quark oder Butter bestrichen

Das Mittagessen um 13 Uhr meist aus 1 Glas Sprudel oder 1 Glas warmer Milch

Das Abendessen um 19.3o Uhr aus 2 - 3 Glas warmer Milch, einigen Kartoffeln, 1 belegtem Butterbrot (Käse), Sprudel

zusammen.

Der Proband nahm in den Diättagen 5 kg an Gewicht ab. Der Hippursäurewert sank nach 4 Tagen auf ein Minimum und pendelte sich dann auf einen annähernd konstanten Wert von ca. 126 mg/Tag ein.

Tabelle 5: Ergebnisse der Diätversuche (4.12.71 - 13.12.71)

Urinproben-Nummer	Menge ml	Extinktion der Boratpufferkurve	Verdünnungsfaktor	Hippursäure			Tagesmenge in mg gesamt
				µg/ml	mg %	mg	
4/II	41o	1,o	15	2o,4	3o,6	125,46	226,26
5/I	4oo	o,82	15	16,8	25,2	1oo,8	
5/II	3oo	o,79	15	16,2	24,3	72,9	199,32
6/I	49o	o,84	15	17,2	25,8	126,42	
6/II	33o	o,78	15	16,o	24,o	79,2	159,18
7/I	43o	o,61	15	12,4	18,6	79,98	
7/II	34o	o,29	1o	5,9	5,9	2o,o6	9o,26
8/I	52o	o,66	1o	13,5	13,5	7o,2	
8/II	37o	1,o4	1o	21,2	21,2	78,44	125,o9
9/I	43o	o,53	1o	1o,85	1o,85	46,65	
9/II	36o	1,o1	1o	2o,5	2o,5	73,8	126,6o
1o/I	3oo	o,86	1o	17,6	17,6	52,8	
1o/II	34o	o,98	1o	19,9	19,9	67,66	124,21
11/I	39o	o,71	1o	14,5	14,5	56,55	
11/II	44o	o,54	1o	11,1	11,1	48,84	125,45
12/I	47o	o,8	1o	16,3	16,3	76,61	
12/II	32o	o,7	1o	14,2	14,2	45,44	126,o8
13/I	48o	o,82	1o	16,8	16,8	8o,64	

II = Abendprobe I = Morgenprobe

Tabelle 5: Ergebnisse der Diätversuche (13.12.71 - 22.12.71)

Urinproben-Nummer	Menge ml	Extinktion der Borat-Pufferkurve	Verdünnungs-faktor	Hippursäure			Tagesmenge in mg gesamt
				µg/ml	mg %	mg	
13/II	28o	o,92	1o	18,8	18,8	52,64	126,56
14/I	42o	o,86	1o	17,6	17,6	73,92	
14/II	34o	o,92	1o	18,7	18,7	63,58	129,73
15/I	45o	o,72	1o	14,7	14,7	66,15	
15/II	34o	o,83	1o	17,o	17,o	57,8	124,13
16/I	33o	o,99	1o	2o,1	2o,1	66,33	
16/II	26o	o,89	1o	18,1	18,1	47,o6	123,2o
17/I	47o	o,79	1o	16,2	16,2	76,14	
17/II	39o	o,91	1o	18,6	18,6	72,54	124,97
18/I	49o	o,53	1o	1o,7	1o,7	52,43	
18/II	31o	o,78	1o	16,o	16,o	49,6	126,27
19/I	41o	o,92	1o	18,7	18,7	76,67	
19/II	38o	o,81	1o	16,5	16,5	62,7	125,9o
2o/I	4oo	o,77	1o	15,8	15,8	63,2	
21/II	36o	1,o2	1o	2o,7	2o,7	74,52	122,32
22/I	27o	o,69	1o	14,o	14,o	37,8	

II = Abendprobe I = Morgenprobe

Tabelle 5: Ergebnisse der Diätversuche (22.12.71 - 31.12.71)

Urinproben-Nummer	Menge ml	Extinktion der Borat-pufferkurve	Verdünnungs-faktor	Hippursäure			Tagesmenge in mg gesamt
				µg/ml	mg %	mg	
22/II	37o	o,78	1o	16,o	16,o	59,2	123,97
23/I	51o	o,62	1o	12,7	12,7	64,77	
23/II	19o	o,98	1o	19,9	19,9	37,81	126,64
24/I	47o	o,93	1o	18,9	18,9	88,83	
24/II	29o	o,99	1o	2o,1	2o,1	58,29	124,68
25/I	465	o,7	1o	14,3	14,3	66,49	
25/II	47o	o,57	1o	11,6	11,6	54,52	125,2
26/I	57o	o,61	1o	12,4	12,4	7o,68	
26/II	34o	o,85	1o	17,3	17,3	58,82	128,45
27/I	33o	1,o4	1o	21,1	21,1	69,63	
28/II	35o	1,o4	1o	21,1	21,1	73,85	127,o4
29/I	27o	o,97	1o	19,7	19,7	53,19	
29/II	23o	o,92	15	18,7	28,o5	64,52	127,o8
3o/I	34o	o,9	1o	18,4	18,4	62,56	
3o/II	29o	o,77	15	15,7	23,55	68,3	128,3o
31/I	4oo	o,74	1o	15,o	15,o	6o,o	

II = Abendprobe I = Morgenprobe

3.3.2.3 Miltaunversuch

16 Tage nach Diätbeginn sollte durch einen Versuch mit Miltaun geprüft werden, ob und in welchem Maße dieses Medikament die Hippursäureausscheidung bei der Versuchsperson beeinflußt.

Versuchsanordnung und Methodik glichen den bisherigen Versuchen.

Versuchsablauf:

Am 2o. Dezember 1971 erfolgte um 9 Uhr vormittags die Medikamenteneinnahme: 1 Dragee Miltaun, 4oo mg.

In einem Zeitraum von genau 12 Stunden wurde die Hippursäureausscheidung gemessen. Die Proben ergaben im einzelnen folgende Werte:

Tabelle 6: Die Ergebnisse aus dem Miltaunversuch

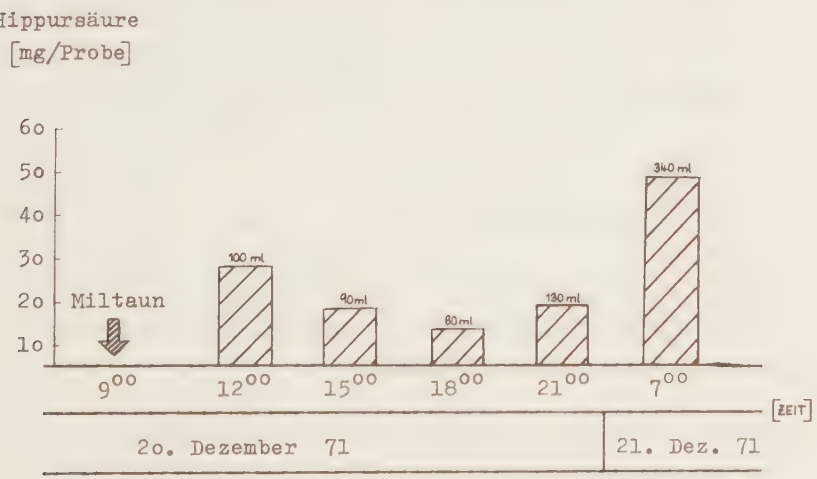
Urin-proben-Nummer	Zeit	Menge ml	Extinktion d. Boratpuffer kurve	Verdünnungsfaktor	Hippursäure µg/ml	Hippursäure mg %	Hippursäure mg	Tagesmenge d. Hippursäure in mg
2o/II'	12^{00}	1oo	o,91	15	18,5	27,75	27,75	
2o/III	15^{00}	9o	o,99	1o	2o,1	2o,1	18,o9	
2o/IV	18^{00}	8o	o,885	1o	18,o	18,o	14,4o	126,38
2o/V	21^{00}	13o	o,69	1o	14,o	14,o	18,2o	
21/I	7^{00}	34o	o,695	1o	14,1	14,1	47,94	

Bereits nach 2 Stunden stellten sich Müdigkeit, Benommenheit, Gleichgültigkeit und eine kurzzeitige euphorisierende Wirkung ein, die einem leichten Alkoholrausch ähnelte.

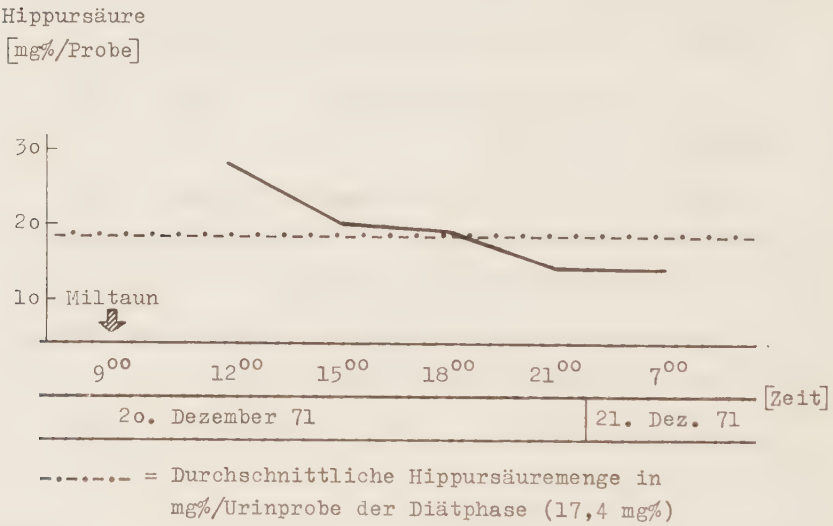
Ab 14.3o Uhr hörten die medikamentösen Wirkungen auf. Zwischen 15.3o und 18 Uhr schlief die Versuchsperson fest; sie stand nach Medikamenteneinnahme unter ständiger Überwachung.

Der Meßwert von 2o/II, der sich aus den Testwerten von 2o/II'- 2o/V zusammensetzt, und der Wert von 21/I bildeten den sonst gewöhnlichen Tagesdiätwert.

Die folgende Darstellung zeigt die einzelnen Ausscheidungswerte in mg mit dazugehörigen Urinvolumina.



Die folgende graphische Darstellung zeigt die einzelnen Ausscheidungswerte in mg% im Vergleich zueinander und zur durchschnittlichen Hippursäuremenge in mg%/Urinprobe der Diätphase.



3.3.2.4 Alkoholtest

Eine Woche nach dem Miltaunversuch sollte in der noch andauernden Diätphase der Einfluß von Alkohol auf die Hippursäureausscheidung getestet werden.

Die bisherige Versuchsanordnung und Methodik wurden auch hier beibehalten.

Versuchsablauf

Am 27. Dezember 1971 trank der Untersuchende in der Zeit von 10 bis 11^{10} Uhr sechs doppelte Whisky's Marke Ballentines 17 years old.

Die Zeitspanne für die Alkoholeinnahme sollte möglichst kurz und die getrunkene Alkoholmenge möglichst groß sein, um in den im Abstand von 2 - 4 Stunden folgenden Messungen den direkten Einfluß von viel Alkohol auf die Hippursäureausscheidung zu untersuchen.

Die Alkoholmenge zeigte sich deutlich im Blutalkoholspiegel. Eine um 12 Uhr entnommene Blutprobe erbrachte einen Gehalt von 1,52 ‰.

Der Proband war stark berauscht und wurde von einem Kollegen genau überwacht.

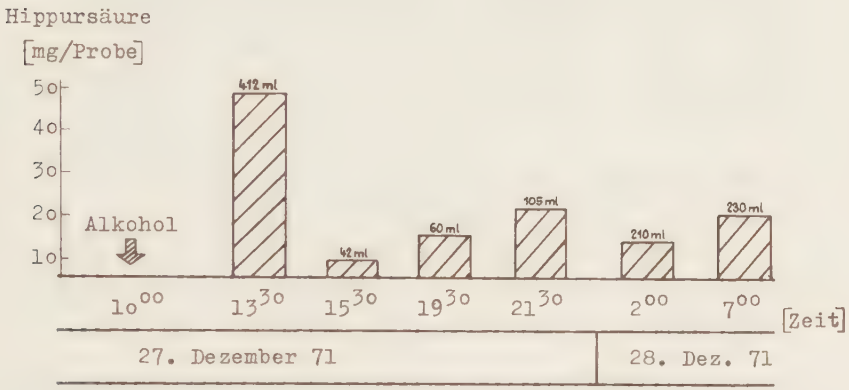
Es wurden 5 Urinproben gewonnen, deren Werte in Tabelle 7 enthalten sind.

Tabelle 7: Die Ergebnisse aus dem Alkoholtest

Urin-proben-Nummer	Zeit	Menge ml	Extinktion d. Boratpufferkurve	Verdünnungsfaktor	Hippursäure /ug/ml	mg %	mg	Tagesmenge d. Hippursäure in mg
27/II'	13^{30}	412	o,57	1o	11,6	11,6	47,8	
27/III	15^{30}	42	o,76	15	15,5	23,25	9,77	
27/IV	19^{30}	6o	o,615	2o	12,5	25,o	15,o	129,06
27/V	21^{30}	1o5	o,7o	15	14,2	21,3	22,37	
27/VI	2^{00}	21o	o,64	5	13,o	6,5	13,65	
28/I	7^{00}	23o	o,875	5	17,8	8,9	2o,47	

Die Gesamttagesausscheidung an Hippursäure blieb wieder konstant. Nur konnten diesmal bei den verschiedenen Testproben große Unterschiede in der Verteilung der Hippursäuremenge in mg und mg% beobachtet werden.

Die folgende Darstellung zeigt die einzelnen Ausscheidungswerte in mg mit dazugehörigem Urinvolumen

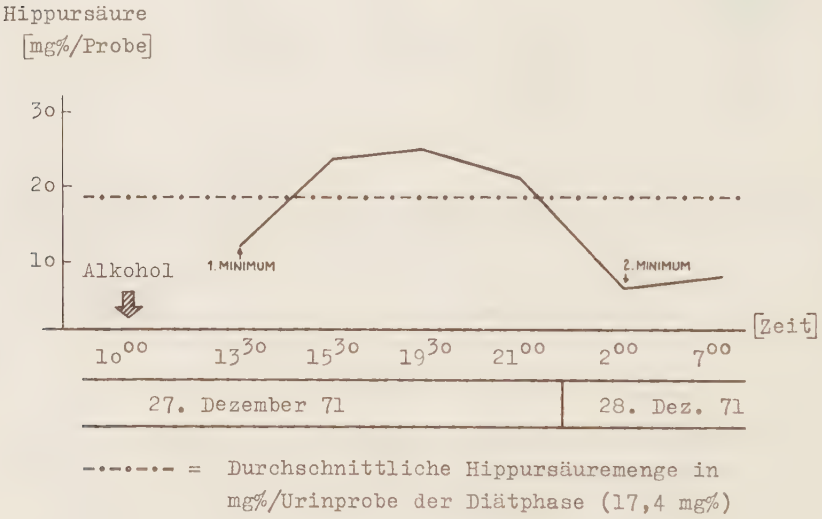


Die 1. Testprobe nach 2 1/2 Stunden erbrachte eine deutliche Hippursäureverminderung gegenüber den Durchschnittsnormalwerten der Diätphase, ähnlich wie sie CHILDS 1964 beobachtet hatte. Die weiteren Urinmengen waren zum Teil zu gering, um sie direkt mit den Durchschnittsnormalwerten der Diätphase vergleichen zu können.

Vergleicht man jedoch die Hippursäuremengen in mg% der Proben des Alkoholtests untereinander und setzt diese zu den ausgeschiedenen durchschnittlichen Hippursäuremengen in mg%/Probe der Diätphase ins Verhältnis, so lassen sich deutliche Konzentrationsverschiebungen innerhalb der Ein-

zelproben im Alkoholtest festhalten.

Die folgende Darstellung zeigt die einzelnen Ausscheidungswerte in mg % im Vergleich zueinander und zur durchschnittlichen Hippursäuremenge in mg%/Urinprobe der Diätphase.



-•-•-•- = Durchschnittliche Hippursäuremenge in mg%/Urinprobe der Diätphase (17,4 mg%)

3.3.2.5 Nachversuche (Leerwert)

Nach dem Alkoholtest, der deutliche Veränderungen in der Hippursäureausscheidung in mg und den Konzentrationen der Einzelproben unterschied, jedoch keine Änderung in der Hippursäuregesamttagesausscheidung in mg zeigte, wurde die Diätphase noch einige Tage weiter fortgeführt.

Am 31. Dezember 1971 beendete die Versuchsperson die Diät und nahm wieder Normalkost zu sich.

Wie aus der graphischen Gesamtübersicht Seite 81 und der Tabelle 8 ersichtlich wird, konnte der Organismus exogen zugeführte Benzoesäure wieder mit mehr Glycin koppeln und als Hippursäure ausscheiden.

Die eingenommenen Speisen wurden im Speisenplan wieder genau vermerkt.

Tabelle 8: Ergebnisse aus den Nachversuchen mit Hippursäure (31.12.71 - 5.1.72)

Urin-proben-Nummer	Menge ml	Extinktion d. Boratpufferkurve	Verdünnungsfaktor	Hippursäure µg/ml	Hippursäure mg%	Hippursäure mg	Tagesmenge in mg gesamt
31/II	460	0,525	10	10,6	10,6	48,76	175,48
1/I	480	0,65	20	13,2	26,4	126,72	
1/II	560	0,42	20	8,5	17,0	95,2	247,3
2/I	360	0,83	25	16,9	42,25	152,1	
2/II	410	0,80	40	16,3	65,2	267,32	792,84
3/I	490	0,96	55	19,5	107,25	525,52	
3/II	330	0,99	45	20,1	90,45	298,48	575,23
4/I	410	0,74	45	15,0	67,5	276,75	
4/II	520	0,68	30	13,8	41,4	215,28	338,16
5/I	320	0,63	30	12,8	38,4	122,88	

3.3.3 Tabellarischer und graphischer Anhang

3.3.3.1 Speisenplan

9. November

Frühstück : 1 gekochtes Ei, 1 Glas Wasser

14^{30} : 1 Tasse Kaffee, Nudelsuppe, Tomatensalat, Fleisch, Reis, Weintrauben

20^{00} : 2 Butterbrote mit Emmentalerkäse, 1 Dose Gemüsesaft, 2 Schoppen "Federweißer"

10. November

Früh 8^{00} : 1 Tasse Kaffee, 1 gekochtes Ei, 1 Brot mit Quark

19^{00} : 3 belegte Brote mit Leberwurst und Quark, Tomatensuppe, Reis und Tomatensalat (Gurken, Zwiebeln), 1 Stück Fleisch, 1 Joghurt, 1 Glas Wasser

11. November

Frühstück : 1 gekochtes Ei, 2 Tassen Kaffee, 1 Leberwurst- und 1 Quarkbrot

13^{30} : 1 Tasse Kaffee, Suppe, 1 Fleischküchle m. Bratkartoffeln und Tomatensalat

19^{30} : 1 Joghurt, 2 Tassen Tee, 2 Leberwurstbrote, Plätzchen

12. November

Frühstück : 1 gekochtes Ei, 1 belegtes Brot (Kalbsleber) 1 Tasse Kaffee, 1 Multibionta-Dragee, 1 Bier

13^{00} : 1 Reissuppe, Bratkartoffeln und Fleischküchle, Tomaten, Weintrauben, 1 Tasse Kaffee

19^{30} : 3 Tassen Kaffee, 1 Butterbrot mit Quark, 1 Stück Hering in Tomatensauce

13. November

Frühstück : 1 gekochtes Ei, 1 Quarkbrot

Mittags : 1 Fischfilet mit Kartoffelsalat, 1 Cola, 1 Tasse Kaffee, 1 Fleischküchle

14^{20} : 2 Tassen Kaffee, 1 Stück Kuchen, Plätzchen, 1 Zigarillo

19^{00} : 1 Fleischküchle mit Brot, 1 Zigarillo, 1 Tasse Kaffee, 1 Bouillon mit Ei, 2 kleine Schnitten Schwarzbrot, 1 Apfel, 2 Mandarinen, Weintrauben

14. November

Frühstück : nichts

Mittags : nichts

16^{00} : 3 Schoppen "Federweißer", 1 Zigarre, 1 Tasse Kaffee, 1 Stück Kuchen

19^{00} : 4 belegte Wurstbrote, 1 Suppe, 1 Bratwurst mit Reis, Bahlsenkekse und Brezeln, 1 Stück Obstkuchen, 1 Glas Cappy

15. November

Frühstück : 2 belegte Tilsiterkäsebrote, 1 Glas Milch, 1 gekochtes Ei

Mittags : Suppe, Reis mit Pilzen und Fleischküchle, Weintrauben, 1 Mandarine

20^{00} : Reis mit Gemüse, 2 Tassen Tee, roher Schinken mit Emmentalerstückchen garniert, 3 Scheiben Schwarzbrot

16. November

Frühstück : 1 Tasse Milch, 1 gekochtes Ei, 1 Stück Brot mit Kalbsleber

Mittags : nichts

19^{30} : 1 Tasse Kaffee, 1 Paar Wienerwürstchen mit Senf, 1 Stück Kuchen, 1 Tasse Tee, Hasel- und Walnüsse, 5 Schoppen Wein,

17. Novemner

Früh : nichts

Mittags : Bratkartoffeln mit Pilzen und 1 Fleischküchle, 2 Mandarinen

19^{00} : Erdnüsse, 2 Tassen Tee, 1 Mandarine, Kartoffeln mit Fleischkäse, 2 Spiegeleier mit Käse überbacken, 1 Tasse Kaffee, 1 Glas Gemüsesaft

18. November

Frühstück : 1 Butterbrot mit Ei

13^{00} : 1 Gemüsesuppe, Bratkartoffeln mit 2 Bratwürsten, Blumenkohl, 2 Mandarinen, 1 Tasse Kaffee

19^{00} : Nüsse, 1 Tasse Kaffee

23^{30} : 4 doppelte Whisky's

19. November

Frühstück	:	nichts
Mittags	:	Kartoffelsalat, 1 Fischfilet, 1 Cola, 1 Tasse Kaffee, 1 Lachsbrötchen
Abends	:	1 Tasse Kaffee, Suppe, Reis mit Fleischküchle, 1 Glas Milch

2o. November

Frühstück	:	1 Tasse Kaffee, 1 Stück Brot, 1 Multibionta Dragee
14^{00}	:	1 Glas Nesquick, 1 Schnitzel mit Gemüsesalat, Pflaumenkompott, 1 Tasse Kaffee
Abends	:	2 Glas Sprudel, 2 belegte Brote mit Corned-Beef, 1 Bier

21. November

Früh	:	nichts
Mittags	:	1 Geflügelsuppe, 1 halbes Hähnchen mit Reis, 1 Glas Milch
Abends	:	1 Glas Sprudel, 1 Stück Brot

22. November

Frühstück	:	1 Tasse Kaffee, 2 belegte Fischbrote, 1 gekochtes Ei
13^{30}	:	2 Tassen Kaffee, Rippchen mit Sauerkraut, Tomatensalat, 2 Mandarinen
15^{00}	:	2 Tassen Kaffee, 1 Stück Kirschkuchen, Weintrauben
$2o^{00}$	:	3 belegte Wurstbrote, Käse, 1 Glas Sprudel

22^{00}-1^{00} : 6 Schoppen Oppenheimer Krötenbrunnen

23. November

Früh : nichts

Mittags : 1 Nudelsuppe, 2 Kartoffeln mit Bratensauce, 1 Glas Milch, 1 Apfel

Abends : 1 Pizza, 1 Bier, 1 Glas Wein

24. November :

Früh : 1 Tasse Kaffee, 1 Multibionta Dragee

Mittags : 1 Gemüsesuppe, Obstsalat, Gemüsesalat, 1 Glas Milch

Abends : 1 Glas Tomatensaft, 2 Spiegeleier, 1 Nusslikör, 1 Vivil

25. November

Früh : 2 Tassen Milch, 1 belegtes Käsebrot

10^{00} : 2 Bier

12^{00} : 1 Stück Brot mit Fleischküchle

Abends : 1 Bouillon mit Ei, 2 Tassen Kaffee, 2 Fischstäbchen, 1 belegtes Wurstbrot

26. November

Frühstück : 1 gekochtes Ei, 1 Tasse Kaffee, 1 Stück Brot mit Quark

Mittags : 1/2 Liter Buttermilch, Hühnersuppe, Reis mit Fleischküchle

Abends : Bratkartoffeln, Zigeunerschnitzel, Pilze, Gemüsesalat, 2 Glas Wein

27. November

Früh : 1 Tasse Kaffee, 1 Stück Brot mit Hüttenkäse

11^{00} : 1 Tasse Kaffee

Mittags : 2 Bratwürste mit Senf, 1 Glas Milch, Tomaten, 1 Banane

Abends : Indonesisches Fertiggericht mit Gewürzen, Fischrogen mit Caviarcreme, 2 Gläschen Sangritta

28. November :

Frühstück : 1 Tasse Nesquick, 2 belegte Käsebrote

Vormittags : Frühschoppen

12^{30} : Reis mit Hühnerkeule, 1 Mandarine

14^{00} : 1 "Federweißer"

Abends : 1 Tasse Kaffee, 1 belegtes Schinkenbrot, 1 Zitrogurt, 1 Glas Orangensaft

29. November : 1 Tasse Kaffee, 1 gekochtes Ei, 1 Stück Brot mit Kalbsleberwurst

Mittags : 1 Tasse Nesquick, 1 Suppe, Bratwurst mit Senf

Abends : Bratkartoffeln mit Schinken und Ei, Bratensauce, 4 Schoppen Weißwein

3o. November

Früh : 1 Glas Milch

Mittags : nichts

Abends : 1 Glas Tomatensaft, 4 belegte Brote mit Aal, Hering, Wurst und Käse, 2 Tassen Tee

1.Dezember

Früh: : 1 Tasse Kaffee, Butterbrot mit Emmentaler

Mittags : Reissuppe, 3 Kartoffeln mit Fleischküchle, 1 Glas Milch, 1 Glas Sprudel

Abends : Haselnüsse, 1 Glas Milch, 1 belegtes Butterbrot

2. Dezember

Frühstück : 1 Glas Milch, 1 Butterbrot mit Kalbsleber

Mittags : 2 Kartoffeln, 1 Bratwurst, 1 Tasse Kaffee

Abends : 1 Stück Brot mit Wurst, 1 Glas Sprudel

3. Dezember

Früh : 1 Glas Nesquick, 1 Stück Brot mit Wurst

13^{30} : 1 Stück Fischfilet, 1 Glas Milch, 1 Glas Sprudel

Abends : Käsebrot mit 2 Glas Milch, 1 Glas Sprudel

4. Dezember D I Ä T B E G I N N

Früh : 2 Tassen warme Milch, 1 Stück Brot mit Quark

Mittags : 2 gekochte Kartoffeln mit Butter, 1 Glas Sprudel

Abends : 1 Stück Brot mit Butter, 2 Glas warme Milch, Sprudel

Während der andauernden Diätphase wurden stets die gleichen Nahrungsmittel verzehrt:

Früh : 1 - 3 Tassen warme Milch, 1 Stück Brot mit Quark

Mittags : nichts, mitunter 1 Glas warme Milch oder 1 Glas Sprudel

Abends : 2 - 3 Glas warme Milch, 1 belegtes Butterbrot, Sprudel

Der Proband nahm in den Diättagen 5 kg an Gewicht ab.

31. Dezember

Früh	:	1 Glas warme Milch, Brot mit Kalbsleberwurst bestrichen
10^{30}	:	3 Glas Sekt mit Orangensaft, 2 Weißwürste mit Senf
Mittags	:	2 Glas Milch, 1 Fleischküchle mit Brot
19^{00}	:	Belegte Brote, Caviar, Ei, Fleisch, Tee, 1 Glas Portwein
Silvester	:	Rindslende, Gemüsesalat (Erbsen Bohnen), mehrere Schoppen Wein, Sekt

1. Januar :

Frühstück	:	1 belegtes Käsebrot, 1 Tasse Kaffee
Mittags	:	Rinderbraten mit Mohrrüben, Reis, 1 Glas Wein
15^{00}	:	2 Tassen Kaffee mit 3 Stückchen Obstkuchen, 1 Glas Wein
Abends	:	2 Glas gemixte alkoholische Getränke

2. Januar

Früh	:	1 Vitamintablette Multibionta
Mittags	:	Rinderbraten mit Mohrrüben, Reis, Bratensauce
Nachmittags	:	Tee mit Plätzchen
Abends	:	Belegte Weißbrotschnitten mit Seelachs und Caviar, 1 Tasse Tee und 1 Lebkuchen
22^{00}	:	1 belegtes Wurstbrot

3. Januar

Früh	:	2 Tassen Kaffee, 2 Stück Obstkuchen
Mittags	:	Reis mit Gemüse und Pilzen, 1 Gemüsesuppe, 1 Orange
15^{00}	:	1 Tasse Kaffee
Abends	:	1 Tasse Kaffee, 2 Spiegeleier mit Schinken, 3 belegte Wurstbrote mit Curry und Meerrettich, 3 Glas Rotwein

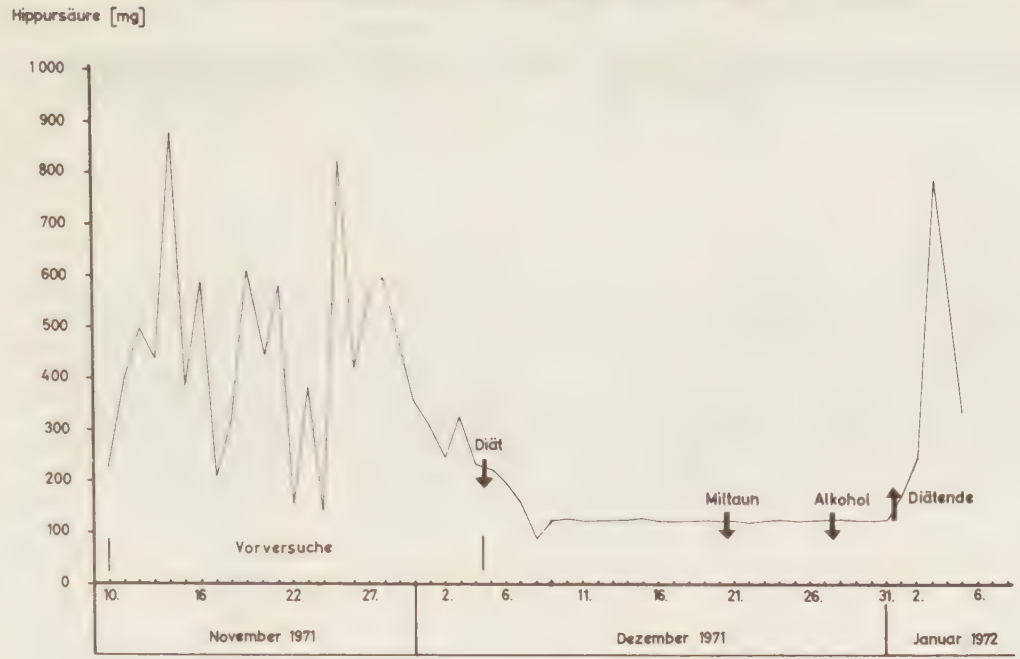
4. Januar

Früh	:	1 Tasse Milch mit belegtem Käsebrot
Mittags	:	1 Suppe, Bratkartoffeln mit Mohrrüben und Fleischküchle, 2 Mandarinen
Abends	:	1 Glas Sprudel, 1 Orange

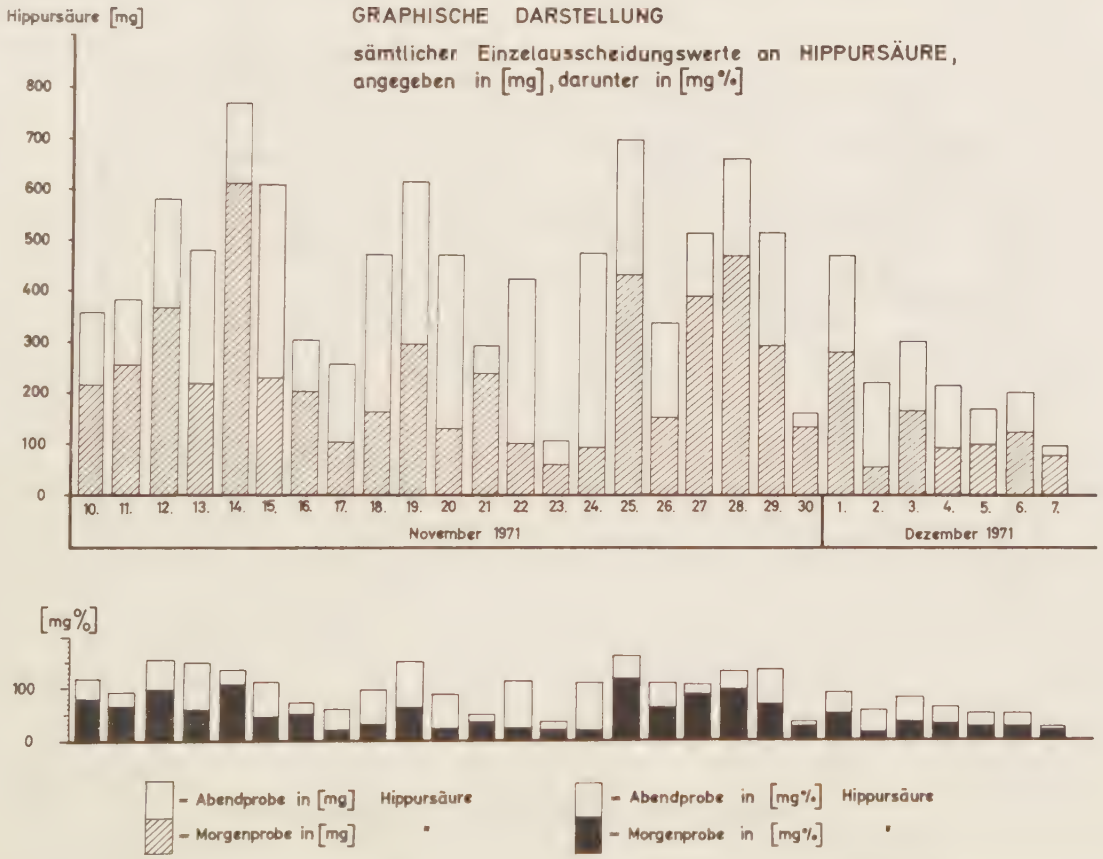
5. Januar

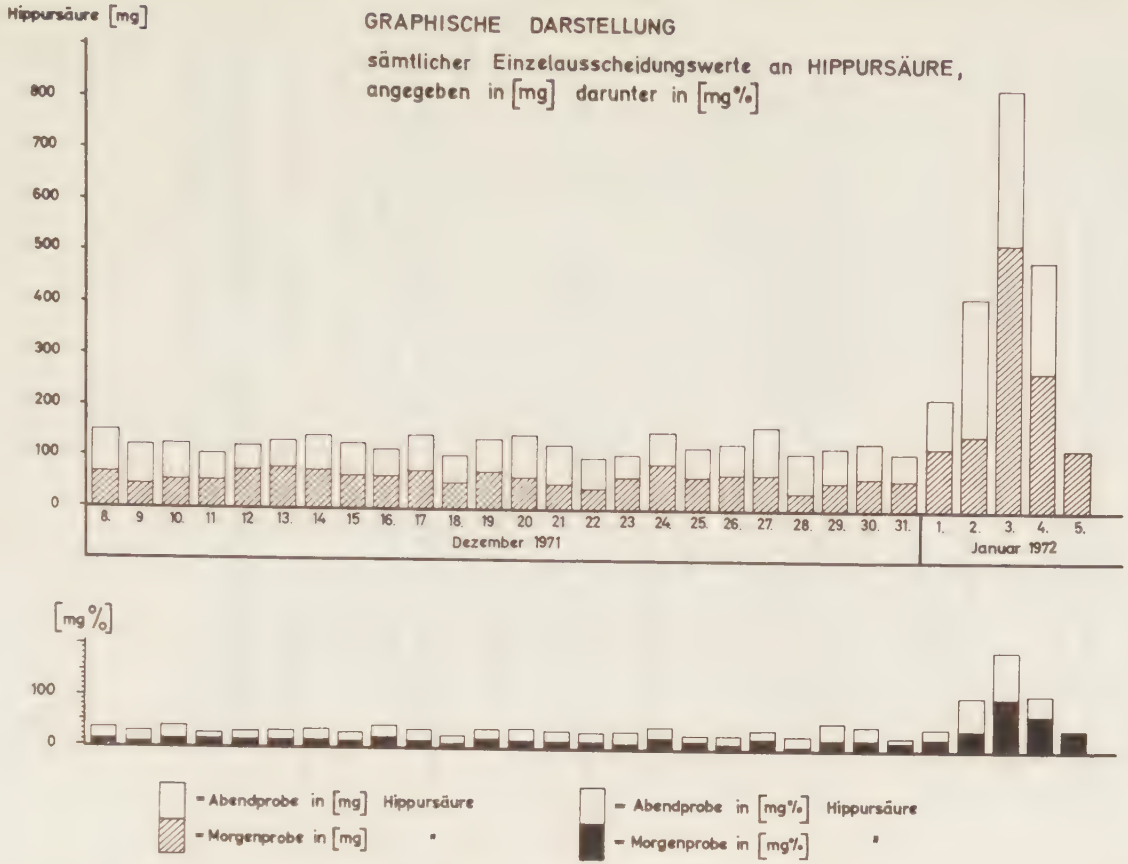
Frühstück	:	1 Tasse Milch
Mittags	:	Schweineschnitzel mit Salat, 1 Orange
Abends	:	1 belegtes Wurstbrot

GESAMTÜBERSICHT der Tageswerte* aller Versuche



* Die TAGESWERTE setzen sich aus den Abend- und den Morgenproben der nächstfolgenden Tage zusammen


Hippursäure [mg]
GRAPHISCHE DARSTELLUNG
sämtlicher Einzelausscheidungswerte an HIPPURSÄURE,
angegeben in [mg], darunter in [mg%]
800
700
600
500
400
300
200
100
0
10. 11. 12. 13. 14. 15. 16. 17. 18. 19. 20 21 22 23. 24. 25. 26. 27 28. 29. 30
November 1971
1. 2. 3. 4. 5. 6. 7.
Dezember 1971
[mg%]
100
0
= Abendprobe in [mg] Hippursäure
= Morgenprobe in [mg] "
= Abendprobe in [mg%] Hippursäure
= Morgenprobe in [mg%] "


Hippursäure [mg]
GRAPHISCHE DARSTELLUNG
sämtlicher Einzelausscheidungswerte an HIPPURSÄURE,
angegeben in [mg] darunter in [mg%]
800
700
600
500
400
300
200
100
0
8. 9 10. 11 12. 13. 14 15 16. 17 18. 19 20 21 22 23 24. 25. 26. 27. 28. 29. 30. 31.
Dezember 1971
1. 2. 3. 4. 5.
Januar 1972
[mg%]
100
0
= Abendprobe in [mg] Hippursäure
= Morgenprobe in [mg] "
= Abendprobe in [mg%] Hippursäure
= Morgenprobe in [mg%] "

4. DISKUSSION

In den Vorversuchen, die nur individuelle Ausscheidungswerte und deren Schwankungsbreite aufzeigen sollen, lag die niedrigste Hippursäuremenge einer Urinprobe bei 29,2 mg.
Demgegenüber steht ein Maximalwert von 617,1 mg, der 2o mal höher liegt.

Andere niedrige Werte liegen zwischen 47,94 und 6o,75 mg, von denen der niedrigste nicht signifikant verschieden ist. Das Spektrum der Ausscheidung ist als physiologisch anzusehen. Der Durchschnitt der Proben im Mittel lag bei 213,22 mg. In einem Liter Urin wurden 496,6 mg Hippursäure ausgeschieden.

Anhand der Tabellen läßt sich feststellen, daß der Morgenurin durchschnittlich 231,64 mg, der Abendurin 194,79 mg Hippursäure enthielt.

Dieser gegenüber dem Abendwert leicht erhöhte Morgenwert läßt sich darauf zurückführen, daß der Proband während der Vorversuche abends sehr oft mehr verzehrte als zu anderen Mahlzeiten.

Es zeigt sich, daß die Leber weder einen Tag-Nacht-Rhythmus noch einen Wach-Schlaf-Rhythmus hatte, sondern viel-

mehr zeitunabhängig die anfallenden Nahrungsmittel verarbeitet und die entstandene Benzoesäure mit Glycin gekoppelt entgiftet.

Es ist zu erwähnen, daß die Morgen- wie die Abendproben den Urin von ca. 11 - 12 Stunden enthielten, also zeitlich annähernd gleich waren.

Die stündliche Ausscheidung betrug bei den Morgenproben etwa 19,3 mg/h, bei den Abendproben 16,2 mg/h.

Aus dem geführten Speisenplan war es nicht möglich auf bestimmte Speisen zu schließen, deren Einnahme zu einer erhöhten oder erniedrigten Hippursäureausscheidung geführt hat.

Lediglich konnte ein einziges Mal, als der Proband ein kleines Päckchen Pfefferminz (Vivil) zu sich nahm, eine enorm erhöhte Hippursäureausscheidung beobachtet werden.

Die Angaben der Hippursäurekonzentrationen in mg% je Urinprobe lassen sich hinsichtlich der ausgeschiedenen Hippursäuremenge nicht verwerten, da sie in keiner direkten Beziehung zu der ausgeschiedenen Gesamtmenge stehen.

Die niedrigste Konzentration betrug 7,3 mg %, während eine andere Urinprobe mit 121,55 mg % konzentrationsmäßig 16,3 mal höher lag.

Die niedrigste Gesamttagesmenge der Hippursäure während der Vorversuche lag bei 14o,86 mg/d und erreichte annähernd den Diätwert; der Maximalwert betrug 877,65 mg/d.

Wie aus Literaturwerten ersichtlich, liegen diese individuellen Werte im Bereiche der Norm. Bei Berechnung der einzelnen Gesamttagesmengen ergibt sich ein durchschnittlich täglicher Ausscheidungsmittelwert von 426,43 mg Hippursäure.

Wie bereits auf Seite 58 erwähnt wurde, mußte durch eine bestimmte Diät der Ausscheidungsspiegel auf ein fast konstantes Niveau gebracht werden, um Aussagen machen zu können, ob und in welchem Maße Meprobamat bzw. Alkohol Einfluß auf die Hippursäureausscheidung nähmen.

Vermieden wurde folglich die Einnahme von Obst, Gemüse jeder Art, Vitaminen (geringe Anteile in Milch ! siehe Kostplan), ferner von Alkohol, Tee, Kaffee, Fruchtsäften, Konserven, Gewürzen und schließlich von Medikamenten.

Die tägliche Hippursäureausscheidung ging von Diätbeginn 4 Tage lang kontinuierlich zurück, erreichte ein Ausscheidungsminimum von 9o,26 mg/d - es war der niedrigste Ausscheidungswert überhaupt - und pendelte sich dann auf einen Durchschnittswert von 125,8 mg/d ein.

Eine Abweichung nach oben wurde mit 4,94 mg, nach unten

mit 3,48 mg errechnet. Interessant ist die Feststellung, daß sich trotz Diäteinnahme erst nach 4 Tagen der Durchschnittswert einstellte.

Wie groß die Einflußnahme der Diät auf die einzelnen Ausscheidungswerte war, läßt sich aus der Tabelle 5 ersehen. Während in den Vorversuchen der Quotient von größter zu kleinster Konzentration einer Urinprobe 2 0 betrug, läßt sich aus den Diätwerten ein Verhältnis von 2,35 (23/II, 24/I) entnehmen.

Ebenso fällt eine gewisse Regelmäßigkeit der Ausscheidung bezüglich der zeitlichen Einnahme von Mahlzeiten auf: der Morgenurin mit durchschnittlich 64,85 mg lag um 4,43 mg höher als der durchschnittliche Abendwert von 6o,42 mg je Urinprobe. Auch hier kann ein gleichmäßiges Arbeiten von Leber und Nieren bei der Entgiftung anfallender Benzoesäure angenommen werden.

Ein Wach-Schlaf- bzw. Tag-Nacht-Rhythmus in der Hippursäureausscheidung fand keine Bestätigung.

Die stündliche Ausscheidung bei den Morgenproben betrug 5,4 mg/h, bei den Abendproben 5,o4 mg/h.

SCHMIDT sprach von dem Auftreten freier Benzoesäure im Urin. Während WALZ bei seinen Versuchen 2 Kristallarten nach einer Sublimationstemperatur von 2oo Grad erhielt,

und DEISEL diese beiden Kristallarten als Benzoe- bzw. Hippursäure identifizieren konnte - Benzoesäure entsteht bei hoher Temperatur durch Zersetzung von Hippursäure -, bei seinen Untersuchungen sonst keine freie Benzoesäure nachweisen konnte (vgl. Diss. Seite 22), kann das Auftreten von Benzoesäure bei den Versuchen von BURGDORF nur damit erklärt werden, daß durch das Einwirken der Hippuricase (FLASCHENTRÄGER 1951) auf die wochenlang stehenden Urine Benzoesäure entstehen mußte. Für das Auftreten freier Benzoesäure in frischen Urinen bei BURGDORF's Untersuchungen finden wir keine Erklärung.

Unter physiologischen Bedingungen konnte der Autor nie freie Benzoesäure nachweisen. Die spektrophotometrische Nachweisbarkeitsgrenze lag bei 5 µg, sodaß auch kleinste Mengen von Benzoesäure hätten erfaßt werden müssen. Unter der UV-Lampe lag die Nachweisgrenze auf der Kieselgelplatte sogar bei 1 - 2 µg.

Nach Einhalten einer konstanten Diät über 12 Tage zeigte die Einnahme von Meprobamat (4oo mg) keine Auswirkung auf den Tageswert der Hippursäureausscheidung.

Die Meßergebnisse (Tabelle 6) zeigten in keiner der erhaltenen Testproben eine deutliche Erhöhung der Hippursäureausscheidung.

Setzt man die ausgeschiedenen Hippursäuremengen der einzelnen Urinproben zu ihren Volumina ins Verhältnis, läßt sich ein annähernd gleiches Ausscheidungsniveau festhalten. Meprobamat wird folglich normal im Stoffwechsel verarbeitet oder anderweitig ausgeschieden, der Entgiftungsmechanismus mit der Konjugation zu Hippursäure nicht beansprucht oder beeinflußt.

Völlig andere Ergebnisse erbrachte der Alkoholtest. Bereits in den Vorversuchen war dem Autor aufgefallen, daß nach Einnahme von größeren Mengen Alkohol (4 - 5 Schoppen Wein) in später Nacht, am folgenden Morgen eher weniger als die sonst gewohnte Menge an Hippursäure ausgeschieden wurde. Dieses Phänomen erniedrigter Hippursäureausscheidung nach Alkoholgenuß beschrieben schon CHILDS und LIEBERMAN 1964.

Auch PIECHOTKA beschrieb diese Beobachtung in seiner Dissertation, konnte allerdings diese nicht durch Meßwerte erhärten, da er während seiner Versuche keine Diätkost zu sich nahm. Um lo Uhr nahm der Autor in einer Stunde 6 doppelte Whisky's zu sich. Der Blutalkohol betrug 1,52 ‰.

Es wurden 5 Urinproben in einem Zeitabstand von 2 - 4 Stunden gewonnen. Die einzelnen Hippursäuremengen in mg und mg % (27/II'- 28/I) wurden bestimmt.

Um den ersten Testwert mit den folgenden vergleichen zu können, mußte deren Hippursäuregehalt in mg % zur Beurteilung herangezogen werden, da die einzelnen Volumina zum Teil sehr gering waren, um sie direkt miteinander vergleichen zu können. Interpretiert man die Darstellung auf Seite 7o, läßt sich nach ca. 2 1/2 Stunden ein Absinken der Hippursäureausscheidung auf ein Minimum feststellen. Der erste Testwert enthielt ca. 15 mg und 5,8 mg % weniger Hippursäure als der gefundene Durchschnittswert der Diätphase. Es folgt ein Aufsteigen im Sinne einer überschießenden Reaktion, bis ein Maximum von 25 mg % nach etwa 8 1/4 Stunden erreicht wurde. Nach 9 1/2 Stunden sinkt die Ausscheidung erneut auf ein Minimum von 6,5 mg %, welches um 2 Uhr früh beobachtet wurde.

Erst die folgenden Hippursäureausscheidungen pendeln sich auf das Diätniveau ein.

Obwohl die Gesamttagesdiätmenge nicht überschritten wurde, könnte sich anhand dieser unterschiedlichen Konzentrationsverteilung in der Ausscheidung der Testproben aus der Kurve folgender Schluß ziehen lassen:

Durch die einfallende große Alkoholmenge wird zeitlich der Entgiftungsmechanismus der Leber blockiert. Das Absinken des 1. Testwertes läßt sich als kurzzeitiger Leberblock deuten. Es stehen zu wenig Glycinvorräte zur

Verfügung, um die anfallende Benzoesäure, die endogen entsteht, zu entgiften.

Erst nach langsamem Abbau des Alkohols kann die Leber genügend Glycin bereitstellen, und versucht dann in einer überschießenden Reaktion ihre behinderte Detoxikationsfunktion nachzuholen und die angestaute Benzoesäure zu entgiften.

Die beiden Detoxikationsminima könnten sich als Erschöpfungsphasen interpretieren lassen, wobei das 1. Minimum mehr auf eine direkte Blockung durch Alkohol, das 2. Minimum auf eine einsetzende Erschöpfung schließen läßt; die erhaltenen Werte sind wahrscheinlich individuell verschieden.

Im Anschluß an den Alkoholtest wurde die Diät noch eine Woche lang weitergeführt und schließlich beendet.

Es sollte jetzt gezeigt werden, daß der Organismus nach dieser langen Diätzeit auch wieder in der Lage war, mehr Glycin zu bilden und damit aufgenommene Benzoesäure zu entgiften.

Der Autor nahm nun verschiedene Speisen zu sich - diese wurden im Speisenplan genau festgehalten - und überprüfte deren Einfluß auf die folgende Hippursäureausscheidung.

Interessanterweise stieg der Hippursäurespiegel nicht sofort auf ein Maximum, wie man hätte erwarten sollen, sondern erreichte dieses erst nach 3 Tagen.

Allerdings wurden dann der dritthöchste Tages- und zweithöchste Einzelwert erzielt.

Die Nachversuche lassen sich jedoch nicht mit den Vorversuchen vergleichen, da zu wenige Einzelwerte vorhanden sind und der Organismus in dieser beginnenden Erholungsphase mehr Vitamine, Obst und Gemüse benötigte als in den Vorversuchen.

Eine Gegenüberstellung von Vorversuchen und Diätphase demonstriert noch einmal die gewonnenen Mittelwerte:

Mittelwerte der Hippursäureausscheidung

Vorversuche		Diätphase
Morgenproben:	231,64 mg	64,85 mg
Abendproben :	194,79 mg	6o,42 mg
Tagesmenge : (Mittelwert)	426,43 mg	125,8o mg
Stündliche Ausscheidung		
a) Morgenproben:	19,3 mg/h	5,4 mg/h
b) Abendproben :	16,2 mg/h	5,o4 mg/h
Tagesmaximalwert:	877,65 mg	129,73 mg
Tagesminimalwert:	14o,86 mg	122,32 mg
Hippursäure/Liter Urin:	496,6 mg	168,4 mg
Hippursäure/Urinprobe :	213,22 mg	62,9 mg
Maximalausscheidung/ Urinprobe:	617,1 mg	88,83 mg
Minimalausscheidung/ Urinprobe:	29,2 mg	37,8 mg

Zu bemerken ist, daß bei dieser Gegenüberstellung die Übergangsphase von Vorversuchen zur Diätphase nicht berücksichtigt ist.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Der einführende literarische Teil der Arbeit ist in enger Anlehnung an die Dissertation von I. KADELBURG entstanden.

In den vorliegenden Untersuchungen wurden insgesamt 1o9 Urinproben, davon 5o diätabhängig, mittels Dünnschichtchromatographie analysiert.

Es konnte gezeigt werden, daß bei den Vorversuchen die tägliche Hippursäureausscheidung enormen Schwankungen unterworfen ist, was auf die Einnahme verschiedener Nahrungsmittel zurückzuführen war.

Der Organismus entgiftete nach Zufuhr exogener wie nach Entstehung endogener Benzosäure. Die eigenen Werte liegen im Bereiche der Norm.

Es wurde deutlich, daß die Leber jederzeit, unabhängig von Tages- oder Nacht- bzw. Wach-Schlaf-Rhythmen ihre Entgiftungsfunktion wahrnimmt, um entstehende Benzoesäure zu eliminieren.

Verwertbare Ergebnisse konnten bei vorliegender Versuchsanordnung mit Bezug auf genaue Einhaltung einer Diät erzielt werden.

Hinsichtlich des in der Klinik durchgeführten QUICK-Tests

zur Prüfung der Detoxikationsfähigkeit der Leber zeigt sich, daß vor Testbeginn mindestens 4 Diättage einzuhalten wären, um eine genaue Aussage über eine Detoxikation zu ermöglichen.

Wichtig scheint, vor Testbeginn Alkoholgenuß zu unterlassen, da sich aufgrund des zeitlichen Leberblocks eine Verfälschung der Untersuchungsergebnisse ergeben muß.

Die Bestimmung dagegen, vor Testbeginn ein mehrtägiges medikamentenfreies Intervall einzuhalten, kann unter Umständen eingeschränkt werden.

Es konnte ferner gezeigt werden, daß appliziertes Meprobamat normal im Stoffwechsel verarbeitet oder anderweitig ausgeschieden wird; der Entgiftungsmechanismus mit der Konjugation zu Hippursäure wird nicht beansprucht oder beeinflußt.

Aus genannter Feststellung, daß Meprobamat (benzolringfrei) nicht als Hippursäure ausgeschieden wird, kann jedoch nicht gefolgert werden, daß der Proband vor Testbeginn nun benzolringfreie Medikamente zu sich nehmen darf.

Die Gabe von benzolringhaltigen Medikamenten (z.B. Salicylsäurehaltige Präparate) oder anderen Medikamenten, die einen Einfluß auf die Hippursäurebildung haben könnten, muß dagegen noch geprüft werden.

Der in der Diät gewonnene Tagesausscheidungsmittelwert von 125,8 mg hat individuellen Charakter.

Es wurden bei anderen Versuchspersonen unter gleichen Bedingungen individuelle abweichende Mittelwerte der Tagesausscheidung von Hippursäure in der Diätphase gefunden (HUBER, SCHUBERT, WAURIG).

Anhand der Wiederfindungsversuche mit Hippur- und Benzoesäure sollte einerseits die Tauglichkeit und Meßgenauigkeit der einzelnen Untersuchungen überprüft, andererseits das Vorhandensein von freier Benzoesäure unter physiologischen Bedingungen widerlegt werden.

Die von SCHMIDT 1956 erwähnte Feststellung, daß Benzoesäure im Urin in wechselnden Mengen vorkäme, konnte nicht bestätigt werden. Vielmehr ließ sich während der gesamten Versuchsreihe der Nachweis des Vorhandenseins von Benzoesäure unter physiologischen Bedingungen nie erbringen.

Die Nachweisgrenze für Benzoesäure lag unter der UV-Lampe bei 1 - 2 /ug, spektrophotometrisch bei 5 /ug.

Trotz Gewöhnung an Diät war der Organismus nach Beendigung seiner Diätphase ohne weiteres wieder in der Lage, vermehrt Glycin zu bilden und damit seine Entgiftungsfunktion wieder voll wahrzunehmen.

Vor der Einnahme des Pharmakons bzw. Alkohols wurde 13 Tage lang die Hippursäureausscheidung in mg gemessen. Der Mittelwert dieser Messungen beträgt 122,96 mg/Tag, die Standardabweichung 9,95 mg. Nach der Einnahme des Pharmakons bzw. Alkohols wurden sieben bzw. acht Tage lang Messungen durchgeführt, deren Mittelwert 125,37 mg/Tag bzw. 127,87 mg/Tag beträgt. Die Standardabweichungen sind 2,o mg und o,98 mg.

Mit Hilfe der t-Prüfung (K. DOERFFEL: Beurteilung von Analysenverfahren und -ergebnissen, S. 42/1965) wurden die Mittelwerte verglichen. Die Differenzen sind zufälliger Natur.

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. ADAMSON, R.H., J.W. BRIDGES, M.E. EVANS, R.T. WILLIAMS:
Species differences in the aromatization of quinic acid in vivo and the role of gut bacteria.
Biochem. J. 116, 437 (197o)

2. ALMQUIST, H.J.:
Principles of amino acid balance.
Arch. Biochem. 46, 25o (1953)

3. AMSEL, L.P., G. LEVY:
Drug biotransformation interactions in man:
A pharmacokinetic study of the simultaneous conjugation of benzoic and salicylic acids with glycine.
J. Pharm. Sci. 58, 321 (1969)

4. ANONYMUS, A.:
Documenta Geigy - Wissenschaftliche Tabellen.
7. Auflage, Pharma Basel 1968

5. ARMSTRONG, M.D., F. Ch. CHAO, V.J. PARKER, P.E.WALL:
Endogenous formation of hippuric acid.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 9o, 675 (1955)

6. ASATOOR, A.M.:
Aromatization of quinic acid and shikimic acid by bacteria and the production of urinary hippurate.
Biochem. Biophys. Acta 1oo, 29o (1965)

7. BERNHARD, K., J.P. VUILLEUMIER, G. BRUBACHER:
Zur Frage der Entstehung der Benzoesäure im Tierkörper.
Helv. Chim. Acta XXXVIII, 1438 (1955)

8. BODEL, Ph.T., R. COTRAN, E.H. KASS:
Cranberry juice and the antibacterial action of hippuric acid.
J. Lab. Clin. Med. 54, 881 (1959)

9. BÖMER, A., A. JUCKENACK, J. TILLMANS:
Handbuch der Lebensmittelchemie.
I, "Allgemeine Bestandteile der Lebensmittel"
Springer, Berlin 1933

lo. BRIDGES, J.W., M.R. FRENCH, R.L. SMITH, R.T. WILLIAMS:
The fate of benzoic acid in various species.
Biochem. J. 118, 47 (197o)

11. BURGDORF, W.:
Untersuchungen über die Größe der Diäthoxalsäureausscheidung im Harn und über die Veränderungen der Diäthoxalsäure und des Adalins bei experimenteller Harnfäulnis.
Dissertation Erlangen (1958)

12. CAMIEN, M.N., A.V. FOWLER, M.S. DUNN:
Determination of apparent hippuric acid and free glycine in urine by microbiological assay.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. lo2, lo4 (1959)

13. CHILDS, A.W., A.H. LIEBERMAN:
Effect of ethanol on formation of hippuric acid by the liver.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 161, 881 (1964)

14. COTRAN, R., M.I. KENDRICK, E.H. KASS:
Role of intestinal bacteria in aromatization of quinic acid in man and guinea pig.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1o4, 424 (196o)

15. DEISEL, K.:
Untersuchungen zur Frage der Ausscheidung von Bromdiäthylacetylcarbamid im Harn.
Dissertation Erlangen (1955)

16. DERACHE, R., J. GOURDON:
Métabolisme d'un conservateur alimentaire: l'acide parahydroxybenzoique et ses esters.
Food. Cosmet. Toxic. 1, 189 (1963)

17. DESPOPOULOS, A.:
Congruence of excretory function in liver and kidney: hippurates.
Amer. J. Physiol. 21o, 76o (1966)

18. FISCHER, R., F. GEORGI, R. WEBER:
Psychophysische Korrelationen VIII.
Modellversuche zum Schizophrenieproblem Lysergsäurediäthylamid und Mescalin.
Schweiz. Med. Wschr. 81, 837 (1951)

19. FLASCHENTRÄGER, B., E. LEHNARTZ:
I, Die Stoffe.
Physiologische Chemie "Ein Lehr- und Handbuch für Ärzte, Biologen und Chemiker"
Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1951

20. FLASCHENTRÄGER, B., E. LEHNARTZ:
Physiologische Chemie "Der Stoffwechsel" II, 1 a
Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1954 a

21. FLASCHENTRÄGER, B., E. LEHNARTZ:
Physiologische Chemie "Der Stoffwechsel" II, 1 b
Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1954 b

22. FLASCHENTRÄGER, B., E. LEHNARTZ:
Physiologische Chemie "Der Stoffwechsel" II, 2 a
Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1956

23. FLASCHENTRÄGER, B., E. LEHNARTZ:
Physiologische Chemie "Der Stoffwechsel" II, 2 b
Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1957

24. FLASCHENTRÄGER, B., E. LEHNARTZ:
Physiologische Chemie "Der Stoffwechsel" II, 2 d
Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1966

25. GARFINKEL, D.:
A metabolic inhomogeneity of glycine in vivo.
J. Biol. Chem. 238, 2435 (1963)

26. GARFINKEL, D., A. LAJTHA:
A metabolic inhomogeneity of glycine in vivo.
J. Biol. Chem. 238, 2429 (1963)

27. GEORGI, F.:
Konstitutionspathologische Probleme bei endogenen Phasen.
Arch. Psychiat. Nervenkr. 185, 6o3 (195o)

28. GRÜMER, H.-D.:
Formation of hippuric acid from phenylalanine labelled with carbon-14 in phenylketonuric subjects.
Nature 189, 63 (1961)

29. HALLMANN, L.:
Klinische Chemie und Mikroskopie.
1o. Auflage. Thieme, Stuttgart 1966

3o. HOFFER, A., H. OSMOND, J. SMYTHIES:
Schizophrenia: A new approach
II. Result of a year's research.
Brit. J. Psychiat. 1oo, 29 (1954)

31. HUBER, R.:
Untersuchungen über Hippursäureausscheidung beim Menschen.
Dissertation Erlangen (1972)

32. IKEDA, M., H. OHTSUJI:
Hippuric acid, phenol and trichloracid levels in urine of Japanese subjects with no known exposure to organic solvents.
Brit. J. Industr. Med. 26, 162 (1969)

33. JOHANNSEN, W.J., S.H. FRIEDMANN, E.I. FELDMANN, A. NEGRETE:
A re-examination of the hippuric acid-anxiety relationship.
Psychosom. Med. 24, 569 (1962)

34. KADELBURG, I.:
Die Hippursäureausscheidung im Urin.
Dissertation Erlangen (1971)

35. KNOEFEL, P.K., K.C. HUANG, C.H. JARBOE:
Renal disposal of salicyluric acid.
Amer. J. Physiol. 2o3, 6 (1962)

36. KUSCHINSKY, G., H. LÜLLMANN:
Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie.
4. Auflage. Thieme, Stuttgart 197o

37. LA DOU, J., G.L. ELLMAN, E. CALLAWAY, I. F. EDMINSTER, R.L. CHRISTENSEN:
Correlates of manifest anxiety.
J. Psychosom. Res. 6, 41 (1962)

38. LANG, K.:
Verträglichkeit der Benzoesäure.
Zschr. Lebensmittelunters. Forsch. 112, 394 (196o)

39. LANG, K., E. LEHNARTZ:
Hoppe-Seyler/Thierfelder's Handbuch der physiologischen und pathologisch-chemischen Analyse.
V. "Untersuchungen der Organe, Körperflüssigkeiten und Ausscheidungen".
1o. Auflage
Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1953

40. LEVY, R., M. SAVICH:
Klinische Erfahrungen über die Leistungsfähigkeit des modifizierten Hippursäuretests und einer neuen Leberstütztherapie bei Schizophrenen.
Arch. Psychiat. Nervenkr. 188, 26 (1952)

41. LOWE, G., A. WILLIAMS:
Papain catalysed hydrolysis of some hippuric esters.
Biochem. J. 96, 199 (1965)

42. MØLLER, K.O.:
Pharmakologie.
4. Auflage, Benno Schwabe & Co.
Basel/Stuttgart 1961

43. PAGNOTTO, L.D., L.M. LIEBERMAN:
Urinary hippuric acid excretion as an index of toluene exposure.
Amer. Industr. Hyg. Ass. J. 28, 129 (1967)

44. PIECHOTKA, R.:
Zur Hippursäureausscheidung nach Miltaun^{R}.
Dissertation Erlangen (1973)

45. QUICK, A.J.:
Synthesis of hippuric acid:
new test of liver function.
Amer. J. Med. Sci. 185, 63o (1933)

46. RAUEN, H.M.:
Biochemisches Taschenbuch.
Springer, Münster 1956

47. RÖMPP, H.:
Chemie Lexikon.
6. Auflage
Franckh'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart 1966

48. SCHACHTER, D.:
The chemical estimation of acyl glucuronides and its application to studies on the metabolism of benzoate and salicylate in man.
J. Clin. Invest. 36, 297 (1957)

49. SCHANKER, L.A., D.J. TOCCO, B.B. BRODIE, C.A.M. HOGBEN:
Absorbtion of drugs from the rat small intestine.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 123, 81 (1958)

5o. SCHMIDT, G.:
Vorkommen und Ausscheidung von α-Äthyl-α-Oxybuttersäure nach Adalinaufnahme.
Arch. Exper. Path. Pharmakol. 229, 67 (1956)

51. SCHUBERT, B.:
Untersuchungen zur Hippursäureausscheidung im menschlichen Urin nach Medikamenteneinnahme.
Dissertation Erlangen (1972)

52. STEIN, W.H., A.C. PALADINI, C.H.W. HIRS, S. MOORE:
Phenylacetylglutamine as a constituent of normal human urine.
J. Amer. Chem. Soc. 76, 2848 (1954)

53. STROHMEYER, G., V. KLINGMÜLLER:
Über Kopplungsprodukte aus Glutaminsäure, Glutamin, Asparagin und aromatische Carbonsäuren.
Clin. Chim. Acta 9, 285 (1964)

54. STRUWE, F.E.:
Untersuchungen an Schizophrenen mit der kombinierten Hippursäureprobe und mit Serumlabilitätsreaktionen.
Schriftenreihe LKH, Schleswig-Stadtfeld 2, 1 (1953)

55. STRUWE, F.E. :
Benzoesäureentgiftung bei Schizophrenie.
Nervenarzt 27, 25 (1956)

56. TEUCHY, H., C.F. VAN SUMERE:
Quantitative thin-layer chromatographic determination of hippuric acid in rat urine.
Clin. Chim. Acta 25, 79 (1969)

57. TOMPSETT, S.L.:
Polyhydroxy (catecholic) phenolic acids-studies of their metabolism in man.
J. Pharm. Pharmacol. 13, 115 (1961)

58. VAN SUMERE, C.F., H. TEUCHY, H. PE, R. VERBEKE, J. BEKAERT:
Quantitative investigation on the hippuric acid formation in healthy and diseased individuals.
Clin. Chim. Acta 26, 85 (1969)

59. VOLLGRAF, G.:
Entgiftungs- und Ausscheidungskapazität verschiedener Formen der multiplen Sklerose im kombinierten Hippursäuretest.
Psychiat. Neurol. 154, 5o (1967)

6o. WALZ, K.E.:
Beitrag zur Frage der Ausscheidung und des Nachweises von Adalin im Harn.
Dissertation Erlangen (1954)

61. WAURIG, R.:
Dissertation Erlangen, in Vorbereitung

62. WEBB, R.E., E. SHAH, E.L.R. STOKSTAD:
Effect of folic acid and vitamin B_{12} on excretion of hippuric acid and formimino-glutamic acid.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 121, 19 (1966)

63. WEISS, G.:
Diagnostische Bewertung von Laborbefunden.
J.F. Lehmann, München 197o

64. WILLIAMS, R.T.:
Detoxication Mechanism.
2. Auflage. Chapman & Hall LTD, London 1959

65. WU, H., H.C. ELLIOTT jr.:
Urinary excretion of hippuric acid by man.
J. Appl. Physiol. 16, 553 (1961)

66. ZIENER, H.:
Untersuchungen zur Frage der Ausscheidung von Hippursäure und Benzoesäure im menschlichen Harn.
Dissertation Erlangen (1972)

Herrn emerit. Professor Dr. Dr. E. Weinig, ehemaliger Vorstand des Instituts für Rechtsmedizin der Universität Erlangen-Nürnberg, danke ich für die Überlassung eines Arbeitsplatzes.

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Professor Dr. H.-B. Wuermeling, Vorstand des Instituts für Rechtsmedizin, für die freundliche Übernahme des Korreferates.

Ein besonderes Anliegen ist es mir, Frau Professor Dr. Dr. M. Geldmacher-v.Mallinckrodt für die Überlassung des Themas meinen großen Dank auszusprechen. Ihr freundliches und persönliches Entgegenkommen, ihre engagierte Hilfsbereitschaft erleichterten mir die Fertigstellung dieser Arbeit ganz wesentlich.

Schließlich möchte ich nicht die MTA's vergessen, die mir mit kleinen organisatorischen Tips den zeitlichen Ablauf erleichterten. Auch Ihnen gilt mein Dankeschön.

Lebenslauf

Als zweiter Sohn des Arztes Dr. med. Valentin Aplas und der Ärztin Dr. med. Margarethe Aplas, geb. Schultz, wurde ich am 2. Mai 1947 in Erlangen geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule in Erlangen trat ich in das Humanistische Gymnasium ein. Von 1958 - 1959 besuchte ich das Gymnasium in Windsbach, anschließend das Gymnasium Fridericianum Erlangen, wo ich im Juli 1966 mein Abitur ablegte.

Nach einem zweisemestrigen Studium der Biologie an der Universität Erlangen-Nürnberg und einem zweijährigen freiwilligen Militärdienst bei der Bundeswehr, begann ich das Medizinstudium an der Universität Würzburg im Wintersemester 1969.

Nach meinem Physikum im August 1971 legte ich mein medizinisches Staatsexamen an der Universität Erlangen-Nürnberg am 26.11.1974 ab.

Druck HOGL ERLANGEN